CAMBIO

ATTI

DELL'

ISTITUTO BOTANICO

"Giovanni Briosi"

E

LABORATORIO CRITTOGAMICO ITALIANO

DELLA

R. UNIVERSITÀ DI PAVIA

REDATTI

DAL PROF. GINO POLLACCI

DIRETTORE DELL'ISTITUTO BOTANICO E DEL LABORATORIO CRITTOGAMICO

VOLUME XI — SERIE IVª

ANNO 1939 - XVIII E. F.

IMPERIAL MYCOLOGICAL INSTITUTE
19 DEC 1939

PAVIA - PREMIATA TIP. SUCCESSORI FUSI, VIA L. SPALLANZANI, 11 - 1939 (XVIII)

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/atti-dellistituto-botanico-delluniversita-di-pavia_1939_11

ANTONIO VALLISNERI [1]

(1) Figura tolta dalla Biografia di Antonio Vallisneri fatta da suo figlio Antonio — Coletti, Venezia 1733.

VALLISNERI ANTONIO DI LORENZO

Antonio Vallisneri (Senior) nacque il 3 Maggio 1661 nella Rocca di Tresilico, capitale di una Vicaria di Guarfagnana, da Lorenzo, Dottore in leggi e da Maria Lucrezia Davini, e morì a Padova il 28 gennaio 1730.

Questo celebre naturalista appartenente a nobile famiglia, incominciò i suoi primi studi a Scandiano, patria di Lazzaro Spallanzani, che fu in continui rapporti epistolari con il figlio del nostro Vallisneri pure di nome Antonio del quale godeva grande stima ed amicizia.

Continuò i suoi studi a Modena presso i gesuiti e finì a Reggio il corso di filosofia. Si dedicò quindi allo studio della Medicina ed andò a Bologna per seguire le lezioni del celebre Malpighi, amico di suo padre Lorenzo. Nel 1685 si laureò in medicina a Reggio, avendo il Duca di Modena proibito ai sudditi di laurearsi fuori dei suoi Stati. Ritornò però presto a Bologna dove si perfezionò nella conoscenza dell'anatomia, della botanica e della storia naturale in generale.

A Venezia ed a Parma frequentò le lezioni di Florio, di Grandi e di Sacchi. Nel 1689, ritornato a Modena, professò medicina. Nell'agosto del 1700 fu chiamato a Padova per coprire la cattedra di Medicina pratica lasciata vacante da Sacchi. Nel 1709 fu incaricato di insegnare la medicina teorica. Fu creato membro delle principali accademie d'Europa ed il Duca di Modena nel 1728 nominò cavaliere Lui e tutti i suoi discendenti. Dalla consorte Laura Mattardi ebbe diciotto figli.

Egli sebbene professasse medicina, mai trascurò la storia naturale per la quale sentiva una forte passione e speciale inclinazione. Si dedicò più che altro alla zoologia, ma Egli fu un grande naturalista e quindi anche le sue descrizioni e i suoi dialoghi interessano non solo la zoologia, ma anche la botanica, ossia tutta la biologia. I Botanici infatti gli hanno dedicato il genere *Vallisneria* della famiglia delle *Hydrocharitaceae*, ed io ho creduto bene d'ornare il presente volume degli Atti dell'Istituto Botanico dell'Università di Pavia con l'effige di questo esimio nostro naturalista.

Bibliografia su Vallisneri Antonio di Lorenzo

Opere fisico-mediche stampate e manoscritte del Cavalier Antonio Vallisneri raccolte da Antonio, suo figliuolo, 3 volumi, Venezia, Coletti, 1733.

Configliachi L., Discorso inaugurale letto nella Grande Aula della R. Università di Padova per l'apertura degli studi nel giorno 3 novembre 1836. È un discorso sugli scritti d'Antonio Vallisneri (Senior), Padova, Tipi del Seminario 1836.

Biografia degli Italiani illustri, pubblicata per cura del professore Emilio de Tipaldo, vol. III, Venezia, Alvisopoli, 1836, pag. 460.

Nouvelle Biographie Générale, depuis les temps les plus reculés jusqu'à nos jours, T. 45, pag. 890 e seg., Paris, Firmin, Didot, 1877.

Camerano Lorenzo, « Antonio Vallisneri e i moderni concetti intorno ai viventi », in « Memorie della R. Accademia delle Scienze di Torino. Serie II. To. LV, 1905, pag. 69 e seg.

Capparoni Pietro, Profili bio-bibliografici di medici e naturalisti, Roma, 1929.

PREFAZIONE

Sono 18 i lavori originali raccolti nella prima parte del presente volume che, come per il passato, furono tutti eseguiti completamente in questo Istituto Botanico e Laboratorio Crittogamico, tranne uno che è stato in parte eseguito nell' Istituto di Fisica sperimentale ed uno in parte nell' Istituto di Farmacologia di questa Università come è indicato nell' intestazione dei lavori stessi.

Sono pubblicazioni che riportano i risultati di ricerche sperimentali originali riguardanti la Botanica Farmaceutica, la citologia, la biologia e la revisione sistematica di alcuni miceti; una la preparazione industriale del dimetilviolantrone, altre la patologia vegetale, la preparazione di nuovi fitofarmaci autarchici, l' anatomia vegetale ed alcune proprietà della clorofilla.

Il volume è preceduto da una breve biografia del nostro celebre naturalista Antonio Vallisneri.

Tutti i lavori sono seguiti da brevissimi riassunti in latino che, anche per questo XI° volume della Serie IV^{a}, sono stati compilati dal Chiar.^{mo} Prof. Don Arnaldo Protti del Seminario Vescovile di Pavia, che pubblicamente ringrazio.

Pavia, 15 Ottobre 1939 (XVII).

GINO POLLACCI

PARTE PRIMA

NOTE E MEMORIE ORIGINALI

R. UNIVERSITÀ DI PAVIA
ISTITUTO BOTANICO « GIOVANNI BRIOSI »
E
LABORATORIO CRITTOGAMICO ITALIANO
DIRETTI
dal Prof. **GINO POLLACCI**

SULLA *DIGITALIS LANATA* Ehrh. PIANTA MEDICINALE ITALIANA

Memoria del Prof. GINO POLLACCI Direttore,
Prof. MARIO GALLOTTI Assistente e Dr. CARLA FELLAGARA Allieva

Com'è noto l'uso della Digitale, come medicinale, è di origine nordica. Withering, botanico e medico di Birmingham nel 1775 osservò le proprietà cardiotoniche della *Digitalis purpurea* e tale specie figura nei trattati di materia medica già dal 1788 come sedativo del cuore, tanto che la chiamarono, in Francia, *Opium du coeur*. Tra le numerose specie di Digitale conosciute, la *purpurea* fu la sola ritenuta officinale. Ora invece è noto che essa non è la sola specie di tale genere ricca di glucosidi cardiocinetici e anzi si sa che fra tutte essa non è la più ricca di tali sostanze, tale primato spettando alla *Digitalis lanata* Ehrh.

La storia della medicina ci ricorda pure che al principio del 1800 il Dott. Brera (1) impiegò nella sua pratica professionale una Digitale dell'Orto Botanico di Pavia, coltivata sotto il nome di *Digitalis epiglottidea* Brera che fu identificata precisamente in seguito come *Digitalis lanata* Ehrh. Tale dottore fu il primo ad esperimentare tale specie e constatò che essa era più attiva ed efficace della *Digitalis purpurea* L.

Fu Morris nel 1917 (2) con *D. lanata*, coltivata in America e De Toni e Tognoli nel 1918 (3) con piante coltivate in Italia, a

(1) Steviano Elisa, Atti Scienze Nat. e Mat. di Modena, Vol. LXVI, 1935.
(2) Rabbeno e Marini, Arch. intern. de Pharm. et Therapia, Vol. XVLIII, p. 297 (1934).
(3) Tognoli e De Toni, Atti R. Ist. Veneto Sc. Lett. e Arti. 78. p. 11, 1918.

Modena, che confermarono i risultati del vecchio medico italiano Dott. Brera e finalmente questa droga, dopo tanto tempo entra in terapia per opera di stranieri mentre fu coltivata per la prima volta a Pavia ed esperimentata con efficacia pure per la prima volta in Italia più di un secolo prima.

I principali Autori, che dopo studiarono tale specie di Digitale sono Bajet (1) che nel 1918 studiò i glucosidi di dodici specie

Fig. 1 — Campo dell' Orto Botanico di Pavia coltivato a *Digitalis lanata*, anno 1936.

di *Digitalis* fra cui la *D. lanata*. Dipert (2) che nel 1922 determinò la dose mortale per il cuore di rana con gli estratti di Digitale e trovò che tale era la dose 0,7-0,8 mgr. per la *D. purpurea*, mentre era di 0,1-0,3 mgr. per la *D. lanata*. Nel 1924 lo stesso Autore in collaborazione con Valentin (3) e nel 1926 con Lasch (4) e con Englisch (5) concluse che la *D. lanata* è 4-5 volte più efficace della

(1) Bajet, I. Suisse de Pharm., 56, p. 248-262 anno 1918.

(2) Dapert, Pharm. Press. 1922.

(3) Dafert O. e I. Vallentin, Zeit fuer Landw. Versuch. in deutsch. Oesterr. 27, p. 42, 1924.

(4) Dafert O. e F. Lasch, Pharm. Acta Helveticae, I, p. 79, 1926.

(5) Dafert O. e K. Englisch, Heil. u. Gerwazrpff. 8, p. 176, 1926.

D. purpurea in accordo coi risultati di altri studiosi. Dezani (1), nel 1936 analizzando un campione di *D. lanata* raccolta in Austria riscontrò un contenuto di glucosidi di gr. 0,726 % contro una media di 0,2-0,3 % delle migliori varietà della *D. purpurea*, e nello stesso

Fig. 2 — Porzione di campo dell'Orto Botanico di Pavia coltivato a *Digitalis lanata* (a maggiore ingrandimento).

anno con la Borsalino-Semeria (2) coltivò la Digitale lanata in Piemonte e constatò che la specie Italiana non presenta modifica-

(1) Dezani, Gazzetta Sanitaria 4, p. 3, 1936.
(2) Dezani-Borsalino-Semeria, Industria Chimica, N. 9, Sett. 1833.

zioni farmacognostiche e neppure modificazioni dei suoi caratteri morfologici in confronto di quelli della stessa specie spontanea dell' Ungheria.

*
* *

La *Digitalis lanata* Ehrh. appartiene alla famiglia delle *Scrophulariaceae*, ordine delle *Personatae*. Sinonimi: *Digitalis Epiglot-*

Fig. 3 — Piante isolate di *Digitalis lanata* coltivate all' Orto Botanico di Pavia.

tidea Brera, *D. Nova* Winterli (1788). *D. orientalis* Elmig; *D. Winterli* Roth (1797). *D. Epiglottis* Scannag (1797).

È pianta biennale che nasce spontanea nelle regioni montane e boscose dell' Epiro, della Tessaglia, della Rumenia e della Bulgaria e che anche in Italia (Lombardia) cresce e si sviluppa benissimo. Nell' Orto Botanico di Pavia nelle particelle di terreno dove

è stata coltivata da alcuni anni, essa nasce subspontanea. Ha resistito alla temperatura invernale dell'anno 1936 e 1937 in cui la temperatura minima nel terreno sperimentale dell'Orto Botanico è scesa sino a 15° C sotto zero. Si può considerare quindi ora la *D. lanata* come una pianta italiana. Essa produce un caule eretto, alto da 1 metro ad 1,50, glabro inferiormente, peloso nella sommità, terminante in grappolo o spiga più o meno fitta, qualche volta ramificata. Le foglie sono oblunghe-lanceolate o lanceolate leggermente, divise od intere, talvolta glabre, talvolta ciliate. Le foglie inferiori sono picciolate, quelle superiori invece sono sessili; esse sono lunghe in media da 5 a 7 cm. per 1-2 cm. di larghezza. La fioritura in Lombardia si inizia a metà giugno. Secondo diversi Autori si semina preferibilmente in terreni calcarei argillosi; mentre noi abbiamo ottenuto ed otteniamo ottimi risultati seminando anche nel terreno alluvionale della Valle del Ticino, presso Pavia, in terreno siliceo, sabbioso, non argilloso.

Le piantine nate in vivaio si mettono a dimora nel campo in marzo od aprile e dopo circa tre mesi o tre mesi e mezzo inizia la fioritura.

Secondo Dezani, Hecht, le foglie essiccate a temperatura non superiore ai 55° e conservate in flaconi chiusi, al riparo della luce e della umidità si mantengono attive anche dopo un anno di conservazione. I fiori sono pure attivi ed i semi hanno un'azione 4-5 volte superiore a quella delle foglie e dei fiori.

Estrazione del complesso glucosidico dal vegetale coltivato nell' Orto Botanico di Pavia.

Allo scopo di controllare il tenore in glucosidi, onde assicurarsi dell'utilità del suo impiego nell'industria nazionale farmaceutica, abbiamo lavorato con criterio industriale, dopo i buoni risultati di prove in piccolo eseguite nel nostro Laboratorio chimico, grandi quantità di materiale usando apparecchi industriali messici gentilmente a disposizione dalla Ditta di prodotti farmaceutici " OGNA " di Milano (Via Farini, 63) che pubblicamente ringraziamo.

I risultati ottenuti sono stati veramente lusinghieri; la resa in preparato digitalico attivo (miscuglio delle tre digilanidi A. B. C.) si aggira sul 2-2,2 %.

Praticamente abbiamo lavorato, basandoci sul metodo di Stoll e Kreiss (1) nel modo seguente:

Alla scopo d'impedire l'azione idrolizzante dell'enzima, contenuto nelle foglie, durante il processo di estrazione Kg 10 di foglie secche ridotte in polvere grossolana si addizionano di Kg. 14 di acqua distillata e Kg. 16 di solfato d'ammonio.

Si mescola accuratamente in una macchina mescolatrice di Werner e Pfleiderer, sino a formare una pasta omogenea (in modo

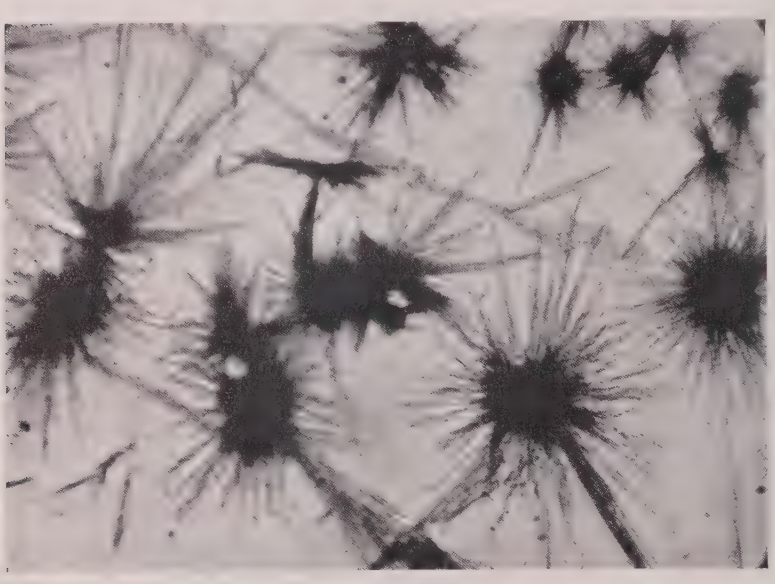


Fig. 4 — Cristalli di Digilanide a forma di ciuffo
(visti a medio ingrandimento)

che tutte le cellule siano impregnate di sale). Il mattino seguente si pressa la pasta in un torchio idraulico e si trascura la parte liquida poichè contiene solo piccole quantità di glucosidi.

La focaccia ottenuta si suddivide bene, si riprende in una caldaia d'acciaio inossidabile chiusa e munita di agitatore meccanico, con 60 litri di etere acetico neutro agitando a temperatura

---

(1) Stoll e Kreiss, Helvetica Chem. Acta t. XVI pag. 1049 (1933).
» » » » » t. CVII pag. 592 (1934).
» » Munch. med. Wochschf. N. 19 pag. 723 (1933).
Arthur Stoll, The cardiac glycosides - The pharmaceutical Press.

di 20-25° per circa 10-12 ore. Si filtra a pressa e il liquido etereo si lava al neutro con soluzione al 2% di carbonato sodico e si pone in luogo fresco.

Con questo trattamento i glucosidi sono passati quasi totalmente nella soluzione eterea, ma per avere un maggior rendimento si fa una seconda estrazione.

A tale uopo si riprende il pannello con altri 15 litri di etere acetico, operando come antecedentemente e riunendo il 2° filtrato

Fig. 5 — Porzioni di cristalli di Digilanide in formazione (visti a massimo ingrandimento)

al primo. Si secca la soluzione eterea lavata con solfato di sodio anidro e di nuovo si filtra.

Si concentra a vuoto alla temperatura di 35°-40° distillando solvente fino a che rimane un residuo quasi secco e colorato intensamente in verde per la presenza di clorofilla.

Si evapora con corrente d'aria secca le ultime quantità di etere acetico ed il residuo secco si trasporta in un estrattore. Si liberano così i glucosidi dalla clorofilla mediante estrazione a fondo con etere solforico. Il prodotto, privato dalla clorofilla si scioglie in alcool metilico, si addiziona di un eccesso di etere acetico e si defeca con idrossido di piombo umido di fresco preparato. Dopo

24 ore di riposo, in luogo fresco si filtra e si distilla il solvente a vuoto. Il residuo secco si riprende con cloroformio circa un litro e mezzo; si secca la soluzione con solfato di sodio anidro e si concentra a vuoto al volume di circa 300 cc. Si versa lentamente agitando il liquido, così concentrato, in 5 litri di etere di petrolio puro e secco. Si separa, sotto forma di fiocchetti leggermente colorati in verdognolo il complesso dei glucosidi termici. Si lascia in riposo per due ore indi si filtra a vuoto, si lava rapidamente sul filtro con piccole porzioni di etere di petrolio e si secca tosto a vuoto a bassa temperatura. Il prodotto così ottenuto, costituito dal complesso dei glucosidi (digilanidi A. B. C.) è accompagnato da piccole quantità di clorofilla e pesa gr. 20,5.

Questo prodotto si può purificare ulteriormente per ripetute cristallizzazioni dall'alcool metilico, ottenendo un prodotto perfettamente bianco e ben cristallizzato. (Vedi fig. 4-5).

Il materiale da noi usato in questi esperimenti fu coltivato tutto nel nostro Orto Botanico.

Seminammo a sfogli la digitale lanata verso la metà di marzo in terreno. Quando le piantine furono sviluppate (in modo che ciascuna avesse quattro o cinque foglioline), dal vivaio le ponemmo a dimora in terreno soleggiato, tenendo una distanza di 25 cm. fra pianta e pianta e tra una fila e l'altra.

Durante l'accrescimento la pianta non ebbe pressocchè nessuna esigenza; occorse aver cura di strappare le erbe infestanti. Nel periodo di maggior calore e della maggior vegetazione fu inaffiata al massimo una volta ogni due giorni. Nell'inverno seguente la pianta si mise a riposo per riprenderne normalmente la vegetazione nella primavera.

La pianta crebbe benissimo e raggiunse in media l'altezza di un metro; le foglie misuravano da 10-12 cm. per una larghezza di 1-2 cm.

La raccolta delle foglie avvenne nella prima metà di giugno al principio della fioritura.

Furono fatte essiccare accuratamente all'ombra e ben secche furono conservate in scatole di latta ben chiuse al riparo dell'umidità per essere poi lavorate. Si ottenne una media di 320 gr. di foglie secche (del II° anno) per metro quadrato di terreno.

CONCLUSIONI

La *Digitalis lanata* coltivata in Lombardia ed in terreno comune senza cure speciali, cresce normalmente e vive anche subspontanea nell'Orto Botanico di Pavia, mantenendo intatti tutti i suoi caratteri morfologici; solo l'altezza appare di poco inferiore a quella delle piante che vivono spontanee in Ungheria. Per quanto riguarda il contenuto in principi attivi, le varie esperienze eseguite in questo Laboratorio, dimostrano che esso è pressocchè eguale a quello delle piante dei paesi d'origine.

Per ogni chilogrammo di materiale fresco impiegato si sono ottenuti in media 2,2-2,3 gr. di preparato glucosidico.

Confrontando la Digitale lanata italiana con la Digitale purpurea si dimostra la prima migliore della *D. purpurea*:

1) Per la maggiore stabilità e costanza della droga. I preparati ricavati dalla D. purpurea per quanto puri e cristallizzati, contengono i glucosidi per la maggior parte scissi, perciò la loro azione si allontana da quello della droga. La digilanide invece quale preparato complessivo, sia dal punto di vista chimico-farmaceutico, sia da quello farmacologico, può essere considerata infuso cristallizzato con i vantaggi della purezza, della costanza e stabilità ed è quindi da preferirsi alla *D. purpurea*.

2) Per un più elevato contenuto in principi attivi.

3) Per il comportamento terapeutico e farmacologico.

4) Per il lato economico, essendo i glucosidi della D. lanata 3-4 volte più attivi di quelli della D. purpurea. Così che con la lavorazione di 1/3-1/4 meno di materia prima è possibile ottenere lo stesso rendimento in prodotti galenici od in principi attivi cristallizzati di quello che si ottiene lavorando la *Digitalis purpurea*.

La *Digitalis purpurea* allo stato spontaneo oltre che in Inghilterra, Corsica, Vosgi, Portogallo, Pirenei, Svezia e Norvegia vive anche in Italia in Sardegna; ma anche la *Digitalis lanata* vive in Italia subspontanea nei luoghi dove la si è coltivata ed essa la si coltiva tanto facilmente in Lombardia (vedi figure) che si può considerare come specie oramai adattata benissimo alla nostra regione e quindi conveniente è il suo sfruttamento anche dal lato autarchico nazionale.

RIASSUNTO

La *Digitalis lanata* Ehrhenberg, coltivata all' Orto Botanico di Pavia cresce normalmente e vi vive anche subspontanea. Il contenuto in principi attivi (glucosidi) è pressoché uguale a quello delle piante dei paesi d'origine.

Per ogni chilogrammo di materiale fresco impiegato si sono in media ottenuti gr. 2,2 - 2,3 di preparato glucosidico.

Questa specie è preferibile alla *Digitalis purpurea*:

1°) perché la droga che da essa si ricava è molto più stabile e costante;

2°) perché ha un comportamento terapeutico e farmacologico preferibile;

3°) perché ha un più elevato contenuto in principi attivi;

4°) per il lato economico essendo i glucosidi della Digitalis lanata 3-4 volte più attivi di quelli della D. purpurea;

5°) perché la *D. lanata* si coltiva benissimo in Lombardia dove vive anche subspontanea, quindi va considerata come pianta medicinale italiana.

SUMMARIUM

Digitalis lanata Ehrhenberg, quam in Horto Botanico Ticinensi colimus, ordinaria eademque subspontanea provenit. Eamdem fere medicamenti (glycosidiorum) copiam continet quam plantae earum regionum, in quibus nativa est. E singulis Kg. materiae recentis adhibitis 2,2 gr. vel 2,3 gr. medicamenti glycosidici extracta sunt.

Haec species *Digitali purpureae* his causis anteponenda est:

1°) quod ex ea specie aroma elicitur multo stabilius et constans;

2°) quod eius vis therapeutica et pharmacologica potior est;

3°) quod maiorem copiam medicamenti contenit;

4°) ratione parsimoniae quod glycosidia e *Digitale lanata* triplo vel quadruplo acrioria sunt quam *Digitalis purpureae*;

5°) quod *Digitalis lanata* facile coli potest in Longobardia, ubi subspontanea quoque provenit; quam ob rem planta officinalis italica habenda est.

Istituto Botanico di Pavia, aprile 1938-XVI.

R. UNIVERSITÀ DI PAVIA
ISTITUTO BOTANICO « GIOVANNI BRIOSI »
E
LABORATORIO CRITTOGAMICO ITALIANO
DIRETTI
dal Prof. GINO POLLACCI

OSSERVAZIONI SUL NUCLEO DEI *PENICILLIUM*

Nota del Dott. FLAVIO GIUSEPPE ELISEI
Assistente al R. Istituto Botanico

(Con 7 figure nel testo)

Introduzione.

In base a ricerche cariologiche molto scarse si afferma che i *Penicillium* abbiano in generale cellule plurinucleate. Sarebbero plurinucleate sia le cellule delle ife vegetative, sia le cellule dei conidiofori e sia quelle differenziate in conidî (v. per es. il Gäumann, a p. 176). Si considera quindi quasi come una eccezione il fatto che alcune forme del gruppo *Penicillium crustaceum* presentino invece le metule, gli sterigmi e i conidî uninucleati.

È stata poi scoperta e descritta dal Dangeard P. A. nel 1907 una specie di *Penicillium* giallo, da lui chiamata *Penicillium vermiculatum* Dang., costituita nella sua forma conidica solo da cellule uninucleate. Sono cioè uninucleate in questa specie, oltre le cellule conidiche e quelle degli sterigmi e delle metule, anche tutte le altre cellule del conidioforo (dei rami e del pedicello) e le cellule delle ife vegetative.

Il Guéguen (v. bibl.) descrive per un *Penicillium* del gruppo anzidetto sterigmi che sono plurinucleati quando sono giovani e binucleati quando sono del tutto sviluppati. L'uno di questi due nuclei è situato nel mezzo dello sterigma e l'altro nel rigonfiamento apicale di esso, che poi diventerà un conidio. La riduzione nel numero dei nuclei avverrebbe secondo l'A. per una fusione dei nuclei tra loro. Questa ipotesi è forse azzardata, tanto più che i due nuclei dello sterigma adulto non hanno un volume maggiore di quello dei numerosi nuclei presenti nella giovane cellula madre dei conidî (tav. I, op. cit.). Una fusione di nuclei mi sembra un fenomeno troppo importante per vederlo seguito da una semplice produzione

di conidî. Credo che sarebbe stato più logico pensare ad una riduzione numerica di nuclei per atrofia.

Il nucleo dei *Penicillium* finora esaminati è un corpo sferoidale o allungato nel senso della lunghezza della cellula, è grande da 0,5 micron a 2 micron circa; presenta una membrana, un enchilema e talora un nucleolo cromatico molto grosso. Esso è spesso circondato da una massa sferoidale di citoplasma di apparenza omogenea e più chiara perchè poco coloribile.

Il nucleo si mostra in stato di attiva divisione specialmente negli sterigmi, ma neppure il Dangeard P. A., che ha usato il migliore fissativo citologico, il Flemming, è riuscito a stabilire se questa divisione sia una mitosi o una amitosi. Negli sterigmi uninucleati il nucleo è mediano o apicale, in tutte le altre cellule uninucleate è mediano, rispetto alla lunghezza della cellula.

Il Dangeard P. A. suppone che un *Penicillium* a cellule uninucleate sia più evoluto filogeneticamente di un *Penicillium* a cellule plurinucleate.

Da questo breve riassunto delle nostre scarse conoscenze cariologiche sui *Penicillium* risulta chiaramente l'utilità di un'ulteriore ricerca. Restano infatti da dimostrare i fatti seguenti:

se il nucleo negli sterigmi si divida in modo diretto o indiretto; se il nucleo delle altre cellule del conidioforo e quello degli articoli delle ife vegetative si divida come nelle cellule madri dei conidî (sterigmi) o in modo diverso; come, nelle cellule uninucleate, il nucleo raggiunga la posizione mediana o apicale; se esista qualche specie con caratteri intermedî, dal punto di vista del numero dei nuclei per cellula, tra i *Penicillium* con solo i conidî, gli sterigmi e le metule uninucleati, e il *Penicillium vermiculatum* Dang. formato interamente da cellule uninucleate; se avvenga nel corso dello sviluppo di una cellula plurinucleata fusione tra loro di nuclei o atrofia di essi.

La dimostrazione di una atrofia di nuclei sarebbe evidentemente di grande interesse, perchè renderebbe attendibile l'ipotesi filogenetica del Dangeard P. A.

*
* *

Materiale e tecnica impiegati.

Per queste ricerche ho usato un *Penicillium* da me raccolto su foglie essicate di *Gerbera Jamesoni* Bolus, colpite da una grave forma di alternariosi provocata dall'*Alternaria Solani* (Ell. e Mart.) Sorauer (v. bibl., Elisei).

Il fungo coltivato in provetta su terreno Pollacci ha i caratteri seguenti:

Colonie lanose, sempre bianche inferiormente, superiormente prima bianche poi rapidamente verdi-glauche con gocce clorine, e infine verdi grige o grige; *ife sterili* numerose, dense, ialine, lisce, cilindriche, settate, ramificate in modo monopodico, a rapido sviluppo, larghe 2-4 micron; *conidiofori* anche essi a rapido sviluppo, con pedicello uni o pluricellulare, cilindrico, ialino, liscio, 30-100 × 2-4 micron; penicillo asimmetrico, con rami, metule e sterigmi; rami uni o pluricellulari, cilindrici, lisci, ialini, larghi 2-4 micron; metule ialine, lisce subcilindriche, ingrossate in alto, 10 × 2-3 micron; sterigmi verticillati, numerosi, ialini, lisci, subcilindrici o quasi clavati, tronchi, 10 × 2-3 micron; *conidî* sferici, verdi-ialini, lisci, catenulati, larghi 3 micron.

La specie può essere quindi riferita alla Divisione Asymmetrica, alla Sezione Lanata-typica, indicate dal Thom nella sua Monografia, e avvicinata al *Penicillium lanosum* West.

I terreni culturali solidi per la presenza di agar-agar, come il terreno Pollacci da me usato, si prestano molto bene a essere inclusi in paraffina e non si alterano qualunque sia il liquido fissativo adoperato. Ho potuto per questo ottenere buoni preparati citologici del *Penicillium* su di essi svituppato. Mi sono occupato solo dei nuclei e ho preferito per il loro fissaggio il *Carnoy-Lebrun*, che è uno dei migliori fissativi cariologici. Esso, come è noto, è costituito da quantità uguali di alcool assoluto, acido acetico, cloroformio e da sublimato corrosivo a saturazioue; miscela che ho preparato circa mezz'ora avanti dell'uso (v. bibl., Beccari). Ho eseguito sezioni di 5 micron, che ho colorito con Ematossilina ferrica di Heidenhain.

*
* *

Descrizione dei fatti osservati.

I conidî, gli sterigmi e le metule sono uninucleati, come pure sono uninucleate tutte le altre cellule del conidioforo, quelle cioè dei rami e del pedicello. Le cellule delle ife vegetative sono in parte plurinucleate e in parte uninucleate. I conidî germinanti sono plurinucleati (Figg. 1-2-3-4-5).

In tutte le cellule del *Penicillium* esaminato il nucleo quiescente è un corpo quasi sempre sferico od ovoidale, raramente di forma ellissoidale allungata. È grande in media 1,5 micron. Presenta una membrana, un enchilema e un nucleolo molto piccolo, che si colora in nero coll'Ematossilina ferrica. Non credo che tutta la sostanza cro-

matica del nucleo sia accumulata in questo nucleolo, perchè tutto il nucleo, in ogni sua parte, si colora fortemente coll' Ematossilina. Non si tratta quindi di un nucleo di tipo primitivo o protocarion. Le dimensioni del nucleo in riposo sono le stesse o quasi in tutte le cellule.

Fig. 1. — Parte superiore di un conidioforo con nuclei (Carnoy-Lebrun, Ematossilina ferrica di Heidenhain), X 1120.

Nei conidî maturi non germinanti e in quelli germinanti il nucleo o i nuclei sono spesso periferici; negli sterigmi, mediani o apicali; nelle metule e in tutte le altre cellule del conidioforo o delle ife vegetative sono quasi sempre mediani e cioè situati nel mezzo della cellula, rispetto alla lunghezza di questa.

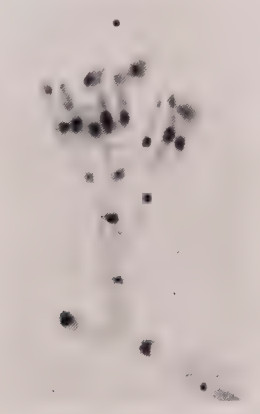


Fig. 2. — Conidioforo completo con pedicello breve unicellulare (id.), X 1120.

In tutte le cellule del fungo il nucleo si divide per cariocinesi, e forma nella profase due cromosomi cilindrici, lunghi circa 1,5 micron, larghi circa 0,5 micron. In questo stadio il nucleo ha perso la sua individualità e i due cromosoni sembrano immersi nel citoplasma. Essi sono longitudinali, tra loro paralleli e vicini, ma non accollati.

Fig. 3. — Conidioforo completo con pedicello lungo del quale si vedono due cellule uninucleate (id.), X 820.

Nella anafase si osservano due coppie di cromosomi, una superiore e una inferiore, in ciascuna delle quali i cromosomi si mostrano per lo più ovoidali o piriformi, con la parte basilare ristretta rivolta verso il punto prima occupato dal nucleo nella profase. Essi sono tra loro convergenti alla base (Fig. 6).

Fig. 4. — Conidî maturi non germinanti uninucleati (id.), X 1840.

Le due coppie di cromosomi, che possono essere tra loro distanti anche 10 micron, sono congiunte per un certo tempo l'una all'altra da un filo di cromatina, che con tutta probabilità è duplice, cioè costituito da due fili vicini o accollati. Ad un certo momento

il filo si spezza verso il mezzo trasversalmente e poi scompare. I due fili di cui esso è senza dubbio costituito, rappresentano la parte mediana ristretta di un cromosoma primitivo (della profase), che per stiramento ha prodotto due cromosomi. Non ho potuto ancora osservare se questo stiramento sia preceduto da una incompleta divisione longitudinale del cromosoma.

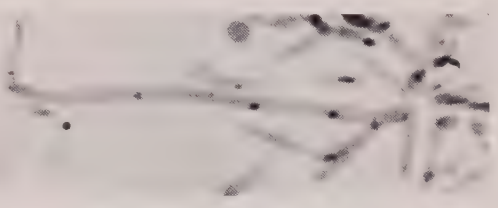


Fig. 5. — Ifa vegetativa con cellule uninucleate (id.), X 1120.

Ciascuna coppia di cromosomi, che sono tra loro vicini e accollati specialmente verso la base ristretta, può, dopo la scomparsa del filo duplice cromatico, entrare in telofase, e cioè organizzarsi in nuovo nucleo quiescente; oppure, e questo frequentemente può osservarsi negli sterigmi, rappresenta come lo stadio finale di profase di una cariocinesi succesisva.

Fig. 6. — Cariocinesi in stadio di anafase in uno sterigma (id.), X 1840.

Talora si osservano tre coppie di cromosomi, una superiore, una centrale e una inferiore. Questo fatto si spiega facilmente pensando che una delle due primitive coppie di cromosomi si sia divisa e abbia dato un nuovo stadio di anafase, mentre l'altra sia restata senza modificazioni.

I conidî maturi non germinanti sono, come ho detto, uninucleati, come pure gli sterigmi, le metule, tutte le altre cellule del

conidioforo e molte cellule delle ife vegetative. Il nucleo di tutte queste cellule non è mai basale, ma centrale o apicale. *Il nucleo acquista questa posizione mediante una o più cariocinesi successive.*

Il nucleo primario di una cellula, così anche quello di uno sterigma, è basale. Esso subisce una cariocinesi che porta uno dei due nuclei figli più in alto, anche ad una distanza di 10 micron dal punto occupato dal nucleo genitore, L'altro nucleo figlio, che occupa la stessa posizione del nucleo genitore, si atrofizza, prima ancora per lo più di riorganizzarsi in nuovo nucleo, e cioè si atrofizza allo stadio di due cromosomi (fig. 7). È relativamente facile osservare questi due cromosomi, destinati a distruggersi in modo completo, alla base degli sterigmi, delle metule e di altre cellule. Essi potrebbero confondersi con banali corpi metacromatici. Ma il vero

Fig. 7. — Cariocinesi in stadio di anafase in uno sterigma con la coppia di cromosomi inferiore in via di atrofia (id.), X 1840.

corpo metacromatico, essendo di natura citoplasmatica, si decolora contemporaneamente al resto del citoplasma nel processo di differenziazione coll'allume ferrico; ed inoltre, se la cariocinesi è recente, si possono osservare questi due granuli cromosomici collegati da un filo cromatico con i due cromosomi superiori, non destinati ad atrofizzarsi.

Con questo resta dimostrato il fatto notevole che il nucleo di queste cellule uninucleate non è primario, ma secondario, e che esiste una vera atrofia di nuclei.

Le cellule sono quindi uninucleate, ma mostrano nella loro ontogenesi una tendenza a divenire plurinucleate. Questo fatto ontogenetico è probabilmente il ricordo di uno stadio filogenetico più antico nel quale la cellula era plurinucleata.

Se osserviamo infine i conidî quando sono giovanissimi, ma già da membrana separati dai conidî contigui o dalla punta dello sterigma che li ha generati, vediamo spesso che il loro nucleo, anzichè essere quiescente o in via di diventarlo, è in stadio di anafase,

con la coppia di cromosomi inferiore o superiore più piccola, in procinto di atrofizzarsi completamente. Anche in queste cellule di riproduzione agama quindi si osserva un dislocamento del nucleo operato da una cariocinesi, e in pari tempo una tendenza a raggiungere una stato plurinucleato, che è per questo senza dubbio più antico.

RIASSUNTO

L' A. in una specie di *Penicillium*, che ha i caratteri del *Penicillium lanosum* West., ha osservato i fatti seguenti; i conidî maturi non germinanti sono uninucleati, come anche tutte le cellule del conidioforo e buona parte di quelle delle ife vegetative sono uninucleate. In tutte le cellule del fungo il nucleo si divide per cariocinesi e forma due cromosomi. Nelle cellule uninucleate, compresi i conidî, il nucleo non è primario, ma secondario; esso cioè proviene dalla cariocinesi di un nucleo preesistente, e dei due nuclei figli uno, spesso l'inferiore, si atrofizza precocemente. Questa cariocinesi, seguita dalla scomparsa di uno dei due nuclei figli, serve anche a portare il nucleo da una posizione inferiore ad una posizione mediana o superiore nella cellula.

SUMMARIUM

Auct. in *Penicilii* specie, quae eadem habenda est ac *Penicillium lanosum* West., haec inspexit: primum conidia matura non germinantia, item omnes conidiophori et complures hypharum vegetativarum cellulas uninucleata esse; deinde in omnibus fungi cellulis nucleum caryocinesi divisum duo chromosamata edere; tum in cellulis uninucleatis, conidiis annumeratis, nucleum non primarium sed secundarium esse, i. e. a caryocinesi nuclei prioris exsistere, e duobusque nucleis natis alterum, saepe inferiorem, praemature tabescere; hac denique caryocinesi (qua facta alter nucleorum natorum dilabitur) id etiam effici, ut nucleus ab infima ad mediam summamve cellulam feratur.

Pavia, R. Istituto Botanico, maggio 1938 XVI.

BIBLIOGRAFIA

1. — Beccari N. — *Elementi di tecnica microscopica.* II ediz., Soc. Edit. Libraria, Milano, 1927.
2. — Dangeard P. A. — *Du role de l' Histologie dans la classification des spores chez les champignons.* Le Botaniste, V sér., 1896-1897, pp. 314-317.
3. — — — *Recherches sur le développement du périthèce chez les Ascomycètes.* Le Botaniste, X sér., pp. 1-385, 1907.
4. — Elisei F. G. — *L' Alternaria Solani (Ell. et Mart.) Sorauer parassita delle foglie di Gerbera Jamesoni Bolus.* Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, serie IV, Vol X, pp. 217-224, 1937.
5. — Gäuman E. A. — C. W. Dodge. — *Comparative Morphology of fungi.* Mcgrav-Hill Book Company, New York-London, 1928.
6. — Guéguen F. — *Recherches cytologiques sur le Penicillium glaucum.* Bull. Soc. Myc. de France, T. XV, pp. 23-33, 1899.
7. — Guilliermon A. — Mangenot G. — Plantefol L. — *Traité de Cytologie végétale.* Libr. E. Le François, Paris, 1933.
8. — Maire R. — *Recherches cytologiques et taxonomiques sur le Basidiomycètes.* Bull. Soc. Myc. de France, T. XVIII, 1902.
9. — Strasburger E. — *Das Botanische Prakticum.* pp. 429-430, Jena, 1884. *Das kleine botanische Prakticum.* pp. 188-189, 1884. *Das botanische Practicum.* pp. 462-463, Jena, 1902.
10. — Thom C. — *The Penicillia.* Baillière, Tindall and Cox, London, 1930.
11. — Wakajama K. — *Contribution to the citology of fungi. III Chromosome number in Aspergillus.* Cytologia, 2, pp. 291-301, 1931.

R. UNIVERSITÀ DI PAVIA
ISTITUTO BOTANICO « GIOVANNI BRIOSI »
E
LABORATORIO CRITTOGAMICO ITALIANO
DIRETTI
dal Prof. GINO POLLACCI

BIOLOGIA DI UNA RIZOTTONIA USATA NELLE RICERCHE DI VACCINAZIONE (*Rhizoctonia Solani* var. *ambigua* nobis)

Memoria del Prof. Dott. ELIO BALDACCI
Vice-direttore del R Laboratorio Crittogamico

e della Dott. ELISA CABRINI
allieva interna

(Con 13 figure)

INDICE

Introduzione e scopo del lavoro . . . . . *pag.* 24

Parte Generale

Origine, provenienza e notizie storiche del ceppo . . . . . » 24
Riassunto del G. *Rhizoctonia* . . . . . » 29

Parte Sperimentale

Morfologia . . . . . » 37
Caratteri colturali . . . . . » 39
Ricerca della forma perfetta . . . . . » 40
Caratteri biochimici . . . . . » 41
Proprietà enzimatiche . . . . . » 43
Ricerche chimiche sui prodotti del metabolismo del fungo . . . » 44
Proprietà tossiche . . . . . » 47
Prove di patogenicità . . . . . » 50
Discussione dei resultati e diagnosi . . . . . » 56
Riassunto . . . . . » 66
Summarium . . . . . » 67
Summary . . . . . » 67
Bibliografia . . . . . » 69

Introduzione e scopo del lavoro

In un precedente lavoro, uno di noi [Baldacci (5, 7)] aveva reso noto che il fungo largamente usato nelle esperienze di vaccinazione delle piante di fagiolo da parte della scuola del Carbone (15, 16, 22) e studiato successivamente da Jarach (23, 43), Kalajaev (24, 46) Alexandri (17, 18, 19), Arata (2, 20, 21) non era da considerare come una *Botrytis cinerea* sotto il quale nome era stato sperimentato dagli AA. ricordati e da altri, ma bensì come un ceppo di *Rhizoctonia*. Ci limitammo per il momento a rendere di pubblica ragione la diversa natura e posizione sistematica del fungo, insieme ad illustrare i resultati delle prove di vaccinazione e di patogenicità da noi ottenuti e ci proponemmo di studiare nuovamente il fungo con l'intento di chiarire insieme, con le cause dell'errore, la sua biologia e la sua vera posizione sistematica.

In questo lavoro si espongono le ricerche effettuate a questo proposito, le quali non comprendono pertanto nessuna esperienza di vaccinazione ma alle precedenti ricerche portano un contributo indiretto poichè sono studiate le proprietà biologiche, patogenetiche, enzimatiche e tossiche proprie del fungo. Il lavoro consta di due parti. La prima ha carattere generico ed illustra l'origine e le vicende tassononiche e sperimentali del ceppo, che come si vedrà sono così strettamente connesse con quelle del genere *Rhizoctonia*, al punto che appare assai strano l'equivoco mantenutosi fino ad oggi. Segue una esposizione riassuntiva dal genere *Rhizoctonia*, con riferimento particolare alle specie che interessano il ceppo. La seconda parte ha carattere sperimentale e riferisce sulle ricerche fatte e ne discute i resultati in rapporto anche alle ricordate esperienze di vaccinazione.

PARTE GENERALE

Origine, provenienza e notizie storiche del ceppo

Come avemmo modo di scrivere precedentemente (5) il ceppo ci fu rimesso dal prof. D. Carbone dell'Istituto Sieroterapico Milanese che a sua volta lo aveva avuto dal Beauverie. È dunque dagli studi di questo autore che occorre rifarci per una precisa esposizione delle vicende, le quali sono per altro connesse all'origine con quelle di una malattia delle piante ortensi e delle serre conosciuta in Francia come " maladie de la toile „. Questo

termine è stato usato per la prima volta dal Mangin (52, 53) e da Prillieux e Delacroix (75) nel 1893-94, i quali tutti attribuiscono la malattia a *Botrytis cinerea*. I due ultimi considerano il fungo come la forma conidica della *Sclerotinia Fuckeliana* e lo coltivano su patata ottenendone una sporificazione normale ed una quantità di piccoli sclerozi. Nonostante le precise critiche mosse contro questa interpretazione, come avremo modo di vedere in seguito, la " malattia della tela „ in Francia e di riflesso in Italia continua ad essere riferita a *B. cinerea*. Così nel trattato di Delacroix e Maublanc (31) ed. 1926, la malattia è ancora attribuita a *B. cinerea*, e opinione analoga sembra seguita in Italia dal Ferraris (37) che nell' ultima edizione del suo trattato (1938, pag. 336) la riferisce a *Sclerotinia sclerotiorum*. In realtà la *B. cinerea* determina una alterazione diversa sugli organi aerei delle piante, mentre non è escluso che compaia nelle piante affette e languenti per gli attacchi nelle parti ipogee da parte della *Rhizoctonia*. Questa quasi contemporanea apparizione, non dimostrata ma facilmente supposta, è da ritenere sia stata forse la causa della confusione eziologica nei riguardi della malattia della tela.

Il Beauverie (8) s' imbatte difatti nella *Rhizoctonia* ma egli la interpreta come una forma sterile della *Botrytis cinerea*. Egli accetta nei suoi lavori l'identificazione dei due AA. francesi citati sopra, nei riguardi dell'agente causale della malattia della tela, ma asserisce inoltre di potere ottenere la trasformazione della *Botrytis* in una forma sterile e parassita. L' A. deve avere avuto dei dubbi al proposito perchè scrive di avere usato dei " ceppi di *B.* autentica „ e con i quali è riuscito ad ottener la trasformazione sotto condizione di alta temperatura (30-35° C.) e umidità vicina alla saturazione, in terreni poveri come carota, terra sterile. Su questo ultimo substrato si hanno anzi, (8), le migliori condizioni per la supposta trasformazione. La descrizione dell' aspetto morfologico del fungo in questo stadio finale, detto sterile o toile, e delle manipolazioni necessarie non lasciano dubbi che il resultato finale era il sopravvalere della *Rhizoctonia* sulla *Botrytis*, della cultura impura di partenza. Questo risulta ancor più manifesto in un altro lavoro publicato con la collaborazione del Guilliermond (10) nel 1903, nel quale le osservazioni precedenti del Beauverie sono confermate e completate con ricerche citologiche. Per la presenza di disegni è più facile in questo lavoro stabilire l'errore in cui sono caduti gli AA. francesi. La *Botrytis* è distinta in tre forme, di cui una tipica sporifera, che comprende la nota specie, una seconda intermedia, cioè di passaggio fra la precedente e la forma " toile „. È molto

difficile stabilire in che consistesse questa forma; più facile invece è asserire che la terza forma " toile „ non è altro che la *Rhizoctonia* con le caratteristiche ife monilioidi, come ben appare dalla figura 13 e dalla descrizione. Importante a questo proposito è l'affermazione che la forma " toile „ è irreversibile, cioè con le stesse parole degli AA.: la toile est une race fixée qui ne peut faire retour, quelles que soient les nouvelles conditions que l'on introduise, à la forme originelle. Altrettanto importante è l'affermazione che " cette forme constitue la maladie si répandue dans les serres à la multiplication et sous les châssis de culture que les horticulteurs appellent la toile. C'est un parasite très dangereux qui coupe au niveau du sol semis et jeunes boutures „. Queste asserzioni e sopratutto l'esame del ceppo che è nelle nostre mani ci confermano nell'interpretazione esposta e che cioè le colture di Beauverie fossero impure e che nelle manipolazioni e coltivazioni su terra avvenisse una sorta di purificazione a tutto vantaggio del vero parassita e cioè della *Rhizoctonia*.

Nelle esperienze di immunizzazione compiute da Beauverie (9) su piante di begonie è usata come " vaccino „ la forma intermedia già detta. Si opera in tal maniera: spore di *B. cinerea* sono seminate su terra sterile e poste in luogo fresco (15°-18° C.). Dopo tre giorni la superficie è ricoperta di filamenti formanti una ragnatela, e portanti numerosi conidiofori con conidi più o meno modificati, ma riconoscibili. Le modificazioni consistono sopratutto nell'allungamento dei conidi che non si distaccano dalla testa del conidioforo, mentre il loro riconoscimento può essere fatto facilmente, a detta dell'A., dal raggruppamento dei filamenti intorno al punto d'origine. Dopo qualche tempo (non è meglio precisato) si trapiantano sulla terra così infettata le barbatelle di Begonia. Le piante si adattano senza ammalare al nuovo ambiente; ponendole successivamente in condizioni da provocare la comparsa della forma " toile „ (cioè ad alta temperatura e umidità) esse non ammalano. L'esposizione piuttosto sommaria del fenomeno e l'uso di culture impure lasciano dubitare fortemente sui resultati di questo trattamento e consigliano di non prendere in considerazione tali esperienze per lo studio dei fenomeni immunitari nelle piante.

Un esplicito dubbio alla determinazione e all'interpretazione effettuata dal Beauverie (8), è fatto dallo stesso Rhuland (84), il quale nel suo noto lavoro prende in considerazione critica i lavori di Sorauer (93), Aderhold (1) e Beauverie (8). A proposito di questo ultimo egli asserisce che la malattia studiata è la stessa che si riscontra in Germania e attribuita al Vermehrungspilz ma che le

colture di *Botrytis* del Beauverie non sono quelle dell' organismo producente la malattia. Il Rhuland partendo da ceppi di *Botrytis* non era riuscito ad ottenere la forma " toile „. Queste conclusioni erano rafforzate dal confronto colturale di *Botrytis* con un ceppo di Vermehrungspilz, che il Rhuland chiamava con il nuovo termine *Moniliopsis Aderholdi*. Successivamente il Duggar muove obbiezione alla interpretazione di Beauverie. Lo scienziato americano aveva difatti attentamente studiato (32) nel 1915 due specie del G. *Rhizoctonia*, la *Rh. Solani* e la *Rh. Crocorum*, contribuendo validamente alla conoscenza di questo genere di funghi. In una seconda nota posteriore (33), venuto a conoscenza dei lavori del Ruhland e del

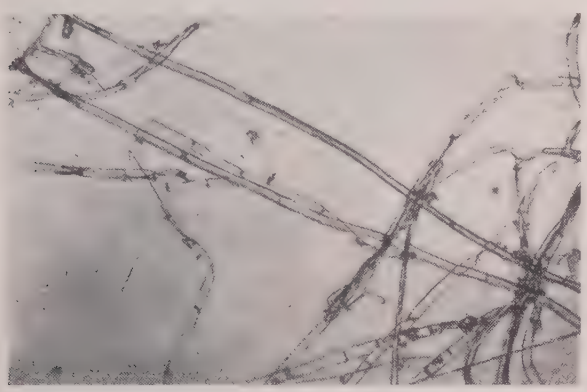


Fig. 1

Rant (77) identifica i funghi descritti da questi AA. con la *Rh. Solani*. Di ciò diremo più particolarmente in seguito; ci preme qui rilevare che il Duggar asserisce ancora l'identità fra la malattia studiata in America sotto il nome di " damping off „ con quelle studiata in Germania e attribuita al Vermehrungspilz e in Francia nota come toile. Egli traccia un breve ma chiaro riassunto delle varie ricerche sul fungo e sulla malattia, rifacendosi dai Therry e Thierry (96) (*) e rilevando le notevoli divergenze circa l'interpretazione della natura e della tassonomia del fungo da parte degli

(*) È molto probabile che l'« araigneè de serres » (*Mortierella Aracnoidea*) di questi AA. sia lo stesso fungo de la « toile » ma manca ogni elemento per stabilirne l'identità.

studiosi. Rimandiamo a questo lavoro assai istruttivo e documentato, mentre ci limitiamo a riportare quanto egli scrive delle conclusioni del Beauverie: " It is unsatisfactory to attempt to draw conclusions from this work, but it is at least probable that his first cultures may have been *Rhizoctonia* and that, however accurately the work with *Botrytis* may have carried out, it had really no connectio with " la toile „.

Nonostante le dichiarate affermazioni di Rhuland e di Duggar, e i lavori sempre più abbondanti e precisi sul g. *Rhizoctonia* di vari scrittori di valore, si ripetono gli errori e le false interpretazioni. Così lo Shaw (88), studiando le specie di *Rhizoctonia* presenti in India, ritiene ancora di dovere affermare che la *Rhizoctonia napi* è sinonimo di *Botrytis*. Egli si appoggia ai lavori di Beauverie. Ma le figure che presenta come forme conidiali di *Botrytis* non persuadono e lascerebbero sospettare che si trattasse di forme basidiofore (!) se egli non avesse mostrato di conoscere i lavori del Rolfs (83) e di altri sull' argomento, poichè in un precedente lavoro (87) ha studiato e figurato una *Rhizoctonia* il cui stadio perfetto è identificato come *Corticium vagum*.

Nel 1924 Siemasko (94) in Polonia studiando la *Monilia foliicola* Woronichin causante macchie fogliare, è dell' opinione che il fungo costituisca una forma degenerata di *Sclerotinia* producente solo micronidi, tuttavia crede che si possa riferire al genere *Moniliopsis* come *M. foliicola* (Woronich.) Siemasko ad interim. È forse da ritenere che si tratti in effetto di un ceppo di *Moniliopsis*, ma i rapporti con il genere *Sclerotinia*, a cui l' A. è indotto dalla conoscenza dei lavori di Beauverie, sono completamente da ritenere errati.

Oltre questi AA. il Nobecourt (65, 66) nelle sue ampie ricerche di immunizzazione, lavorando con le colture di Beauverie continua a considerarle come forme di *Botrytis*, e infine tutta la scuola del Carbone iniziando le ricerche con un trapianto avuto dallo stesso Beauverie asserisce trattarsi di *Botrytis*. Così Jarach (43) nel 1928, e successivamente Kalajaev (24) che porta la cultura in Russia e la studia nuovamente (46) e Alexandri (17) che continua gli esperimenti in Rumania (18, 19), non muovono nessun dubbio circa la vera identità del fungo sperimentato. In Italia il Pasinetti (70, 71) lavora con lo stesso ceppo avuto dalla scuola del Carbone studiandone la patogenicità in rapporto all' azione dei raggi X e a variazioni del metabolismo del fungo, ma anche egli asserisce trattarsi di *Botrytis* nonostante gli esami microscopici.

Il ceppo " toile „ iniziatosi così fra errate interpretazioni ed equivoci continua a rendere aleatorie e improbe le fatiche degli sperimentatori che vi si dedicano (*).

Riassunto del G. *Rhizoctonia*

Questo riassunto vuol essere breve, con riguardo esclusivo alle specie che hanno avuto riferimento con il fungo in studio e con lo scopo di integrare quanto è stato detto precedentemente. Non mancano d'altro canto recenti e men che recenti esposizioni riassuntive del genere. [(Duggar (32) Constantin (29) Braun (11)].

Il genere è fatto dal De Candolle (30) nel 1815, per le due specie *Rh. Crocorum* e *Rh. Medicaginis*, considerate in seguito identiche dal Tulasne (98) sotto il binomio *Rh. violacea*. Questa identità è stata accettata da tutti i micologi, ma spetta al Duggar (32) aver rivendicato la priorità del nome *Rh. Crocorum* dato dal De Candolle.

Kühn (47) descrive la *Rh. Solani* nel 1838 ma la specie è spesso confusa con le precedenti di De Candolle, ed è solo con Duggar (32) nel 1915 che si inizia un processo di revisione fra agenti fungini e termini specifici; fra malattie e loro cause. Duggar forte di aver conferito direttamente con il Kühn, stabilisce la diversità delle due specie: *Rh. Crocorum* D. C. (= *Rh. violacea* Tul.) e *Rh. Solani* Kühn. Di ambedue queste specie egli precisa le caratteristiche morfologiche, colturali, patogenetiche, e la distribuzione geografica. Egli ne stabilisce ancora la sinonimia dopo attenti esami di essicati e di colture, ed è in grado così di dare l'elenco delle specie erroneamente riferite a *Rhizoctonia* e quello delle specie imperfettamente descritte o aventi bisogno di uno studio critico del materiale per una conferma. Il lavoro di Duggar è oltremodo preciso e per l'esattezza della presa di posizione e della trattazione meriterebbe di essere più conosciuto dagli studiosi sull'argomento. Tuttavia data la vastità delle ricerche e il moltiplicarsi delle esperienze erano sfuggite al Duggar in questo primo lavoro alcune malattie riferite ad altri agenti e cioè quella giavanese riferita ad un " mopopilz „ e quella del centro Europa riferita al " Vermehrungspilz „ nonchè l'altra nota in Francia come " maladie de la toile „. Il Duggar (33) pubblica quindi l'anno appresso

(*) Riteniamo utile rilevare che negli elenchi del C. B. S. di Baarn il ceppo di Beauverie è segnalato a partite dal 1930 sotto il termine di *Rhizoctonia* sp.

una nota per confrontare criticamente queste malattie con quella americana da lui studiata sotto il nome " damping off „, e per concludere sulla identità delle malattie e degli agenti causali. Già il Rant (77) ristudiando il " mopopilz „ l'aveva identificato con il Vermehrungspilz. Il Duggar conclude inoltre con l'identità fra *Rh. solani* e *Moniliopsis Aderholdi.*

In realtà per tale affermazione sarebbe stato necessario un confronto diretto delle colture ma il Duggar si basa principalmente

Fig. 2

sull'identità della malattia (*) e sulla somiglianza delle descrizioni dei caratteri morfologici del fungo.

Il Ruhland aveva, come si è detto (pag. 26) fatto una critica dei lavori sulla malattia attribuita al " Vermehrungspilz „ ed aveva dato una descrizione e una diagnosi del fungo facendone un nuovo genere e una nuova specie: *Moniliopsis Aderholdi.* La descrizione

(*) C. E. Owens in Principles of Plant Pathology (1918) ritiene la malattia del « damping off » ad eziologia multipla, ed annovera come agenti principali il *Pythium Debaryanum, il Corticium* (*Rhizoctonia*), un *Fusarium.* Oltre questi ricorda *Sclerotinia, Botrtytis Trichoderma ecc.*

del Ruhland è un poco sommaria, poichè egli indugia invece a stabilire le differenze con la *Botrytis* in rapporto alla interpretazione del Beauverie, di cui si è detto. Secondo il Ruhland la *Moniliopsis Aderholdi* presenta pseudoconidi (cellule monilioidi) di 15-30 = 11-17,5 μ, ialini da prima e poi bruni.

L'identità fra la specie del Ruhland e la *Rh. Solani* stabilita da Duggar, è negata circa dieci anni dopo da Müller (58). Egli studia comparativamente un ceppo isolato da ciclamino (che l'A. asserisce identico alla *Moniliopsis Aderholdi*) e un ceppo di *Rh. solani* isolata da patata. In riassunto le differenze, ricavate dalla lettura del testo, sono:

Rh. Solani	*Mon. Aderholdi*
T. maximum: 30° C.	T. maximum: 31,8-35° C.
T. minimum: 7° C.	T. maximum: 14° C.
T. optimum : 25° C.	T. optimum: 29° C.
Spessore del micelio ad alta temperatura: 8,3 μ.	Spessore del micelio ad alta temperatura: 7,0 μ.
Sviluppo buono anche ad alte pressioni osmotiche con scarse forme d'involuzione.	Sviluppo scarso ad alte pressioni osmotiche con abbondanti forme d'involuzione.
Nessun sviluppo in concentrazioni acide.	Sviluppo in concentrazioni acide.
In colture liquide le ife si riuniscono in un tessuto membranoso solido.	In colture liquide le ife sviluppano in gomitoli e formano micelio più o meno sferico (a boccia).
In inoculazioni su patata in serra, produce danni ai germogli e forma un reticolo di ife sulle radici e sulle porzioni epigee del fusto.	In inoculazioni su patata in serra forma pseudosclerozi più piccoli della *Rh.* e che attaccano solo superficialmente l'epidermide e non hanno l'apparenza crostosa di quelli di *Rh.*

Queste principali differenze inducono l'A. ha non accettare l'identità fra le due specie, asserendo che per i suoi limiti di temperatura la *Mon. Aderholdi* si localizza principalmente nelle serre. In un lavoro successivo (59) il Müller identifica la *Rh. Solani* come stadio imperfetto dell'*Hypochus Solani* Prill. e Del., avendo ottenuto lo stadio basidiale con basidi aventi le stesse misure riportate nel Saccardo e sterigmi poco più piccoli. In un terzo lavoro (60) lo stesso A. presenta uno studio completo sullo sviluppo e sulla biologia dell'*H. Solani* (*Rh. Solani*).

Alle conclusioni del Müller si associa nel 1925 il Wellensiek (101) secondo il quale la *Rh. Solani* ha ife più larghe da 9 a 10 μ di spessore mentre la *Mon. Aderholdi* misura 5-7 μ di spessore. Un'altra differenza sarebbe data dal fatto che quest'ultima non

riesce a parassitare le patate in inoculazioni sperimentali su circa 60 prove, mentre la *Rh. Solani* è positiva in 38 casi su 40. L'A. inoltre riesce ad ottenere la forma basidica per la *Rh.* e in nessun caso per la *Moniliopsis*.

Egli conclude quindi trattarsi di due diversi microrganismi. Queste vedute sono confermate in un successivo lavoro, (102) dove si afferma la necessità di ulteriori osservazioni per la *M. Aderholdi*. Per contro il Thomas (97) un anno prima asseriva che le differenze morfologiche e fisiologiche fra le due specie non erano maggiori di quelle fra i vari ceppi di *M. Aderholdi* studiati, e che di conseguenza la divisione in due generi non poteva essere accettata. Egli aveva ancora osservato che tutti i ceppi misuranti 8,5 μ di diametro delle ife, hanno un optimum relativamente basso e formano poco micelio e larghi microsclerozi (1-4 mm.); quelli con ife di 7 μ o meno di diametro hanno un optimum relativamente alto e formano molto micelio e piccoli microsclerozi (0,5-2 mm). L'A. non prende tuttavia una precisa posizione sulla sistematica dei funghi studiati.

Sulla differenza fra le due specie si pronuncia il Van Poeteren (100) a proposito di un ceppo isolato, patogeno per le Orchidee, e che non attacca le patate.

Il Burchard (14) accetta il genere *Moniliopsis* creando una nuova specie: *M. Klebanii*, che oltre alle varie differenze morfologiche si distinguerebbe dalla precedente per la specializzazione su conifere.

Schaffnit e Meyet-Hermann (86) studiando l'influsso della reazione del terreno sulla biologia di alcuni funghi registrano sia per la *Rh. Solani* sia per la *M. Aderholdi* lo stesso pH optimum = 7,0; ma mentre quest'ultima preferirebbe una reazione nettamente alcalina del terreno (e ciò, rileviamo, in contraddizione con i dati del Müller), la *Rh. Solani* presenta un adattamento notevole all'acidità, con uno sviluppo più abbondante in mezzi a reazione alcalina. Jankowska (42) accetta il genere *Moniliopsis*, dando della specie *M. Aderholdi* le seguenti caratteristiche: in coltura il fungo sviluppa bene su terreni solidi con sali minerali e glucosio, ma si adatta facilmente su tutti i sustrati, dalla carta, alle foglie di tiglio, all'acqua sterile, e simili. La concentrazione idrogenionica optimum è fra 5,8-6,2; la temperatura optimum a 25° C. con un minimum a 6-7° C. Ma la rapidità di sviluppo è diversa con l'età delle colture. Il fungo sarebbe un saprofita in natura che sotto condizioni di alta umidità e temperatura come nelle serre, diventa patogeno.

In Russia è segnalato dal Nestertschuk (61) come *M. Aderholdi* su radici di *Larix siberica* e di pino e introdotta secondo

l' A., con piantine di ortaggi ammalate. Viceversa il Gutzevitch (41) studiando il " blach leg „ del cavolo ritiene che *Moniliopsis* e *Rhizoctonia* siano un identico fungo, il quale in coltura apparirebbe resistente alle basse temperature, fino a 18° C per alcune settimane; la concentrazione idrogenionica optimum sarebbe a pH = 7-7,6 ma si adatta da pH 4,9 a 9,1.

Morotchkowski (57) nel 1936 segnala un marciume bruno delle radici della barbabietola da zucchero che riferisce a *M. Aderholdi*, e poco diverso da quello prodotto da *Rh. Crocorum*. La malattia incideva per un massimo del 5-6 % di piante ed era confinata nelle parti più basse della coltura. L' A. inclina ad usare il termine *M. Aderholdi* anzichè *Rhizoctonia* perchè non ne ha ritrovato lo stadio fertile. Il fungo preferisce i terreni poco acidi e non sviluppa a pH = 7,5. Secondo l'A. la *M. Aderholdi* è stata ritrovata come causa di un marciume del cotone nell' Asia Centrale Russa.

Il Richter (82) recentemente si pronuncia favorevole all' identità fra la *Rh. solani* e la *M. Aderholdi*, a proposito di un isolamento da *Cereus* rispettivamente e da Lupino. Il Braun (11) nella sua monografia sulla *Rh. solani* dopo aver riassunte le varie opinioni dice che è difficile capire se si ha a che fare con specie dello stesso genere o con razze della stessa specie. Secondo l' A. occorrerebbe tenere per base l' eguaglianza morfologica.

Infine per ultimo segnaliamo il notevole lavoro dello Schultz (91) che ha studiato comparativamente circa 89 ceppi di collezione o di nuovo isolamento del vermehsungpilz. Fra i primi è compreso anche il nostro ceppo, che egli ha ricevuto da C. S. B. di Baarn. Ma diciamo subito che le uniche caratteristiche studiate ed indicate per questo ceppo sono soltanto la mancata patogenicità per il *Lupinus luteus*, inoculato in semi germinanti. Mancano a proposito di questo ceppo, come di altri di collezione, i riferimenti morfologici, termici, e la formazione delle anastomosi, con i quali caratteri l' A. ha costituito dei " gruppi „ fra i numerosi ceppi confrontati. Più interessante è l' opinione dell' A. circa la specializzazione di questi funghi; solo i ceppi isolati da patata si mostrano specifici, i rimanenti sono patogeni anche per famiglie di piante, diverse da quelle d'isolamento. Riallacciandosi all' opinione dell' Hartley (39) che afferma che la specializzazione non ha valore tassonomico, lo Schultz scrive che più che di specializzazione si deve parlare di " preferenza „.

Nella tav. 1 abbiamo riunito le varie segnalazioni riferite a *Moniliopsis Aderholdi*. Molte sono le specie di *Rhizoctonia*, oltre la *Rh. Solani*, che si sono venute creando successivamente, da parte di vari

AA., mentre il g. *Moniliopsis* è rimasto isolato a poche specie (*), si chè l'incorporazione di queste nel g. *Rhizoctonia*, data l'identità dei caratteri generici appare assai giustificata. Tuttavia come rileva giustamente il Castellani (27) occorrerebbe uno studio comparativo approfondito fra i due gruppi di specie che fanno capo rispettivamente a *Rh. Crocorum* e *Rh. Solani*, per stabilire se debbano o non costituire un unico genere, in rapporto anche alla conoscenza della forma perfetta. Per il momento ci sembra da seguire l'opinione di questo A. che distingue due sottogeneri: *Eurhizoctonia* per le specie

Fig. 3

che più si avvicinano alla *Rh. Crocorum* e che come questa forse rappresentano forme vegetative di Basidiomiceti inferiori, a basidi settati, qual'è *Helicobasidium purpureum* il quale appunto secondo le indagini di Buddin e Wakefield (13) sarebbe della *Rh. Crocorum* la forma perfetta. L'altro sottogenere con il termine *Moniliopsis* dovrebbe comprendere tutte le forme affini o similiari alla *Rh. Solani*. Di questo sottogenere l'A. presenta una diagnosi emendando quella di Rhuland.

Questo breve riassunto delle vicende del genere in esame non può essere chiuso senza ricordare i vari tentativi fatti da parte di AA., per distinguere comparativamente i numerosi ceppi isolati di *Rh. Solani*. Monteith e Dahl (56) conclusero negativamente non riscontrando differenze sufficentemente fisse e definite per distinguere le *Rh.* causanti la malattia a macchie scure su piante

(*) Oltre la *M. Aderholdi*, e le ricordate *M. Klebanii*, e *M. foliicola* esiste ancora nella letteratura micologica una *M. Fagi* Konopacka.

erbacee e i ceppi di *Rh. Solani*, patogeni per le patate e altri ospiti.

La comparazione dei caratteri patogenetici e biochimici ha permesso invece ad alcuni scrittori di poter distinguere e raggruppare variamente i ceppi studiati. [Matsumoto (54) Richards (79-80) Newton (62), Newton e Meyers (63)]. Edward e Newton (34) in particolare sostengono che l'azione enzimatica può costituire un metodo di classificazione fra i vari ceppi, che morfologicamente appaiono indistinguibili. Il Castellani (27) presenta una chiave analitica di varie specie basata principalmente sui caratteri morfologici e limitata alle sole specie studiate. Lo Schultz (91) già ricordato distingue i i suoi ceppi in base alle fusioni anastomosiche, in 5 gruppi e precisamente:

Gruppo I: *Rh. Solani* K. var. *Hortensis* n. v.
» II: *Hypochnus Solani* P. et D. var *brassicae* n. v.
» III: » » var. *tipica* n. v.
» IV: *Rh. Solani* K. var. *cichoriae endiviae* Thomas.
» V: » » var. *fuchsiae* n. v.

Oltre queste specie restano ancora alcuni ceppi che non rientrando nelle caratteristiche dei gruppi precedenti, vengono dall'A. battezzati con altri termini specifici o di varietà. Secondo questo A. il termine *Moniliopsis Aderholdi* è da considerare come caduto in sinonimia (*Rhizoctonia*).

Sui particolari che interessano relativamente il nostro ceppo con questi studi ritorneremo nella discussione dei resultati.

Tab. I - Specchio riassuntivo delle segnalazioni di " *Moniliopsis Aderholdi* „

N.° d'ordine	Nome dell' Autore	N.° Bibliogr.	Anno	Ospite su cui è trovato su fungo	Osservazioni
1	Rhuland	84	1908	Aspargio ornamentale	
2	Rant	77	1908	*Cinchona* sp.	Malattia del « Monopilz » (Iava)
3	Kyropoulos	48	1916	Cavolo	
4	Van Hall	99	1921	*Cinchona* sp.	Malattia del « Mopog » (India)
5	Müller	58	1923	Ciclamino	
6	Thomas	97	1925	*Cinchona* sp. e Begonia	
7	Wellenziek	101	1925	*Cinchona* sp.	
8	Baehr	3	1925	Petunia sp.	con esperimenti di lotta
9	Tchonmakova	95	1925	Cavolo	con esperimenti di lotta
10	Pape	67	1926	Ciclamino	
11	Landgraf	49	1926		Esperimenti di lotta in serra su piante diverse, infettate da *M.* e da *B. cinerea* (?)
12	Pape	68	1927	Begonia	
13	Maas	51	1927	*Pteris*	
14	Van Poeteren	100	1928	*Odontoglossum grande*	
15	Schmidt	89	1928	Begonia	
16	Rath	78	1928	—	in letti caldi
17	Kvashina	(*)	1928	—	(*) citato in SORAUER: Handb. Planzen-K. (1932)
18	Schaffnitt e Meyer-Hermann	86	1930	*Brassica oleracea*	
19	Jankowska	42	1930	Begonia, *Lobelia, Petunia*	
20	Nestertschuk	61	1930	Cavolo, pino e larice	
21	Estiveyeff	36	1930	*Hibisae esculentus, H. cannabinus, Abutilon avicenrae* ecc.	
22	Pape	69	1931	*Pelargonium* sp.	
23	Zaprometoff	103	1931	*Hibiscus cannabinus* e *H. esculentus*	
24	Schmidt	90	1931		Marciume radicale associato a *Fusarium.*
25	Shepherd	92	1933	canna da zucchero	È riferito come una forma imperfetta di *Corticium Solani*, ma senza la tendenza a formare sclerozie senza colorazione bruna
26	Gutzevitch	41	1934	cavolo	L'A. ritiene che il g. *Moniliopsis* sia sinonimo di *Rhizoctonia.*
27	Flachs	38	1935	cactacee	
28	Bubentzoff	12	1935	cavolfiore	
29	Richter	82	1936	*Cereus* sp.	identico a *Rh. Solani*
30	Morotchkovski	57	1936	bietola da zucchero	

PARTE SPERIMENTALE

Morfologia

I caratteri morfologici del fungo sono studiati in colture su copri-oggetto ricoperte di un sottile strato di agar (Terreno Pollacci) e mantenuti in grosse provette sterili, nel cui fondo è conservata dell'acqua per mantenere una umidità sufficente durante la permanenza in termostato. Questo metodo non è che una semplificazione di quello proposto da Revalier-Seydel. Le colture sono tenute a 26° C. per circa un mese. I vetrini sono allora estratti,

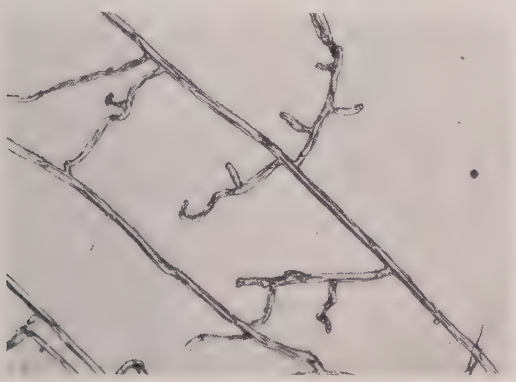


Fig. 4

lasciati essicare a temperatura ambiente o più rapidamente a 24° C. per alcuni minuti e fissati in alcool. Non si sono eseguite colorazioni dato il notevole rilievo delle ife e la tinta del micelio che permettono facili osservazioni, come dimostrano le fotografie annesse.

Vi si distinguono due tipi di ife. Il primo con filamenti rettilinei, lunghi, a cellule rettangolari isodiametriche, ialine se giovani bruno-giallognole o color nocciola se mature, ramificate (fig. 1). La ramificazione è ascellare, immediatamente sotto il setto cellulare, (fig. 2) o normale all'ife al centro generalmente della cellula (fig. 3). La direzione delle ramificazioni non si mantiene costantemente normale ma varia in rapporto a condizione esterne (sustrato, ecc.) (fig. 4, 5). Questi rami hanno origine da piccole " gemme „ che si settano subito, (fig. 3) dando origine a cellule ialine, brevi, succes-

sivamente più scure e allungate. All'estremità non si presentano costantemente diritte ma possono assumere degli incurvamenti o forma di rampino (fig. 4) o addirittura simulare dei conidiofori irregolari se il numero di queste è notevole (fig. 6). La nostra illustrazione può forse spiegare in parte l'errore in cui sono caduti i primi micologi che descrissero questo ceppo.

Il secondo tipo delle ife è costituito dal caratteristico aspetto monilioide, con cellule brevi, tozze, ovoidi od a barilotto, strozzate leggermente in prossimità del setto, ialine se giovani e colorate come le precedenti se mature (fig. 7).

Sono queste ife che confluendo (fig. 8-9) contribuiscono a formare le masse o noduli stromatici o pseudosclerozíali, talora assai estesi e risultanti dall'aggregarsi dei noduli primitivi, con consistenza coriacea e di forma svariata. Il processo di formazione è stato illustrato da Peyronel (72) ed ha luogo con la formazione di brevi, iniziali filamenti, ramificati ed anastomizzati fra di loro e producenti ciuffi di catenelle monilioidi. In coltura (vedi a seguito) si formano di preferenza sulle pareti del vetro, (fig. 10) e sono di forma circolare, inizialmente bianchi, poi scuri o nocciola fino a nerastri, rotondi, o schiacciati o depressi, piccoli, e confluenti insieme in masse più notevoli. Più raramente e meno abbondantemente si formano sull'agar al centro della coltura ed allora sono di forma sferica, assai grandi.

Caratteri biometrici del fungo:

Diametro delle ife allungate . . . . . da 6- 8,7-10 a 12,5 μ

Distanza fra i setti . . . . . da 70 a 210 μ

Diametri delle cellule monilioidi . . . da 12,5 - 18-20 = 10-12,5 μ

Sclerozi riunite in masse . . . . . da 1 a 3 mm.

Sclerozi sferici in coltura . . . . . da 5 a 10 mm.

Le misure sono tutte assai variabili. In particolare la distanza fra setti sembra variare con l'età, essendo minore nelle ife giovani e maggiore nelle vecchie. Le ife monilioidi non sono particolarmente abbondanti nelle colture alla Rivalier-Seydel; si formano facilmente in coltura e sono visibili nei prelevamenti effettuati. Nel nostro ceppo le misure sono inferiori a quelle solitamente indicate per la *Rh. Solani.*

Caratteri colturali

Colonia gigante: in terreno Pollacci a 26° C.

Lo sviluppo delle ife aeree procede radialmente (fig. 11); dopo 48 ore queste raggiungono la periferia della scatola, con sviluppo eccentrico; invecchiando la coltura (dopo 4 giorni) le ife si addensano riunendosi in una massa uniforme bianco-latte o bianca con riflessi giallognoli (fig. 12). In uno stadio più avanzato si formano gli sclerozi (fig. 13) dopo 6 giorni. L'aspetto delle colonie del nostro ceppo è simile a quello che lo Schultz (91) illustra nel gruppo 1° (corrispondente allo stesso gruppo delle anastomosi).

Colture in provette. Terreno Pollacci. T. 26° C; pH = 7,5.

Il fungo sviluppa ottimamente, rapidamente e facilmente, su questo sustrato, formandovi per tempo gli sclerozi. La colonia sviluppa con ife aeree bianche e poi bianco-giallognole. Nelle colture il colore diventa bianco-sporco e bianco latte. I filamenti rampanti attorno al vetro danno alla coltura un aspetto aracnoideo, mai peloso, come nelle colture di Mucoracee. Gli pseudosclerozi si formano fin dal 4° giorno e poco più tardi a 18° C. Inizialmente sono bianchi, piccoli come capocchie di spillo successivamente imbruniscono fino a farsi color nocciola e nero. Si formano in abbondanza sulle pareti del vetro, dove confluiscono in masse coriacee; sulla coltura si forma non più di uno sclerozio rotondo grosso.

Agar fagiolo. T. 26° C.

Lo sviluppo del fungo è assai più scarso e più lento che nel precedente terreno. Le colture sono bianche e solo più tardi bianco-latte o giallognole. Anche la formazione degli sclerozi avviene come nel precedente terreno ma con maggior ritardo.

Patata in pezzi T. 26° C.

Sviluppo rapido e abbondante dopo 48 ore, con formazione di un feltro bianco e con accenno alla formazione di sclerozi, con i caratteri indicati. Lo sviluppo prosegue rigoglioso, diffondendosi su tutto il sustrato. Leggera pigmentazione dell'acqua.

Acqua-peptoglucosata. T. 26° C.; pH = 7,4.

Si ha la formazione di un feltro in superficie, che dopo circa 10 giorni è assai spesso, con masse scleroziali, di color nocciola che

tende fino al grigio o nero o cacao. Il liquido si presenta fortemente pigmentato con una tinta rosso-vinoso carico. Sul fondo del liquido zaffi biancastri.

Gelatina. T. 18° C.

La coltura ha lo stesso aspetto che nei terreni precedenti. La gelatina è fluidificata lentamente. Non si ha formazione di masse pseudo-scleroziali. (Vedi a seguito, pag. 43).

Soluzioni minerali al nitrato e saccarosio. T. 26° C. (*).

Lo sviluppo è buono e assai rapido, con colonie uniche di color bianco e poi bianco-giallognolo. Sulle pareti dei matracci di coltura si formano abbondanti pseudosclerozi (fig. 10). Maggiori particolari su queste colture sono dati in seguito, nel capitolo delle attività biochimiche.

Terreni vari.

a) su terra o sabbia; il fungo sviluppa facilmente su sustrati di terra o di sabbia, sterilizzata, entro vasetti da giardino e mantenuti a 26° C. Dopo 24 ore si osservano colonie bianche superficiali in forma di batuffoli lanosi, sparsi, di circa 1 cm. di diametro. Successivamente lo sviluppo ricopre tutta la superficie, verso il 20° giorno, con tendenza a sviluppare superficialmente fino a fuoriuscire lungo la parete esterna dei vasi. Il colore del micelio passa al bianco-cinereo e grigio. Non si è osservata formazione di pseudosclerozi.

b) su carta da filtro inumidata, sviluppa mediocremente in superficie con ife rettilinee rare sottili. La cellulosa non è attaccata.

Ricerca della forma perfetta

Prillieux e Delacroix (76) descrissero sotto il nome di *Hypochnus solani* fin dal 1881 la forma perfetta della *Rh. solani* ma gli AA. non collegarono fra loro metageneticamente le due specie; si è invece visto che gli stessi AA. francesi studiando alcuni anni dopo la " maladie de la toile „ l'attribuirono a *Botrytis cinerea*. Il rapporto metagenetico doveva essere riscontrato molto più tardi, sia pure attraverso varie difficoltà d'interpretazione. Così Rolfs (83) prima nel 1903 e Güssow (40) più tardi nel 1906 accettano la

(*) Per la formula vedi a pag. 45.

designazione fatta dal Prof. E. A. Burt di *Corticium vagum* B. et C. var. *solani*, mentre il Laubert (50) nel recensire i due lavori è dell' opinione di riferirsi alla determinazione di Prillieux e Delacroix, che venne accettata in seguito da tutti i micologi come la vera nomenclatura corrispondente alla esatta posizione sistematica del fungo.

Le nostre ricerche per rintracciare la forma perfetta del ceppo in nostro possesso non hanno avuto esito positivo. Oltre che ricercare tali fruttificazioni sugli organi delle piante infettate artificialmente (vedi pag. 50) si è tentato la formazione in coltura secondo il metodo consigliato e sperimentato positivamente dal Müller (59) e consistente nelle colture del fungo su di un terreno così costituito: 1 % peptone, 0,5 % amido di patate. Successivamente il fungo era trapiantato, dopo 17 giorni, in tubi di assaggio contenenti carta da filtro saturata con acqua e mantenuti alla temperatura di 20° C. Dopo 5 giorni l' A. ottiene su due colture così allestite la fruttificazione ricercata. Nelle nostre colture su carta da filtro sia in provette sia in scatole Petri non si è ottenuto altro che uno sviluppo mediocre del fungo con formazione di sclerozi, a T. 26° C. e nessuna formazione di ife monilioidi e di sclerozi a 18°, durante un periodo di circa 30 giorni.

Caratteri biochimici

Temperatura optimum. La ricerca è effettuata coltivando il fungo a 10° C., a 18° C. in stanza, a 26° C. e 37° C. in termostato, su terreno Pollacci.

A 10° C. lo sviluppo è scarso, dopo 6 giorni la colonia è meno di 1 cm. circa di diam., in forma di una massa ragnatelosa bianca.

A 18° C. le colonie in scatola Petri raggiungono dopo 2 giorni 2 cm. di diametro e la massa delle ife è assai poco compatta, piuttosto rada, bianca. Nelle provette lo sviluppo è appena iniziato. Tutte le colture seppure progredendo nella crescita restano sempre indietro rispetto a quelle a 26° C.

A 26° C. le colonie in scatole Petri raggiungono dopo 2 giorni 4-5 cm. di diametro e sono di aspetto più denso e più feltroso, bianche. La formazione degli sclerozi si inizia al 4° giorno.

A 37° C. lo sviluppo è assai scarso; dopo due giorni si verifica una pigmentazione dell' agar che non si ha alle altre temperature. La colonia non progredisce sensibilmente, e così la pigmentazione non si diffonde.

Cambio della reazione. Il fungo è coltivato su di un terreno liquido così costituito:

Acqua 1000; peptone 10 gr., saccarosio 5 gr. NaCl 1 gr.; distribuito in matracci per una quantità di 100 cc., il pH sperimentato varia da pH = 2,9; a pH = 4,5; a pH = 6,6; a pH superiore a 8,2. Non è stato possibile misurare esattamente quest' ultimo valore poichè l'apparecchio in nostro possesso (Leeds e Northrup Co. Philadelphia) non da oltre questo valore cifre esatte. La forte alcalinità era tuttavia dedotta anche dalla colorazione verde che il liquido prendeva al momento del saggio con l'aggiunta del chinidrone.

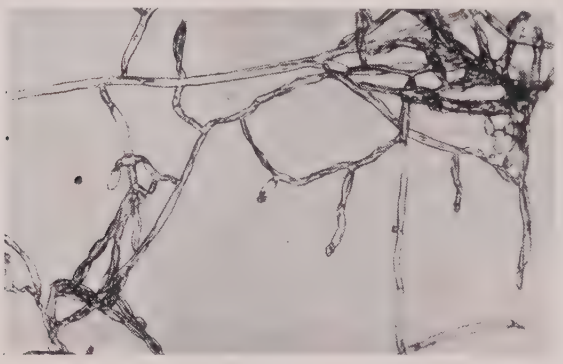


Fig. 5

I vari pH, ottenuti con acidificazione con acido fosforico e alcanizzazione con carbonato sodico, sono così rispettivamente trasformati dopo 40 giorni di coltura a 26° C:

a pH = 2,9 - nessun sviluppo della coltura
da pH = 4,5 a 8,1 - sviluppo discreto
da pH = 6,6 a 8,2 - sviluppo abbondante
da pH oltre 8,2 a pH = 8,1 sviluppo abbondante.

Oltre il mancato sviluppo a pH = 2,9; si osserva una crescita più abbondante e più rapida a pH = 6,6 e pari a quella a pH oltre 8,2. Nei primi 3 giorni di coltura, a pH = 4,5 si ha la comparsa di piccole colonie galleggianti di pochi mm di diametro (da 2 mm a 10 mm) mentre nel pH alcalini le colonie sono assai estese di 3-4 cm. filamentosi se emerse, fioccose se immerse. Dopo 10 giorni queste hanno raggiunto il diametro massimo consentito dal matraccio (cm. 10) e nel matraccio a pH = 4,5 si hanno solo coloniette di 2-3 cm. Il liquido in tutti i matracci si pigmenta for-

temente fino a colorarsi in nero scuro; le colonie passano dal nocciola al grigio, al nerastro. La formazione di pseudosclerozi è sollecita nel matraccio pH = 6,6 e oltre 8,2; ritardata nella coltura acida.

Fluidificazione della gelatina: La gelatina, usata pura (marca oro) è fluidificata per un'altezza di 2 cm. in tubi di assaggio di 1,5 cm. di diametro dopo 15 giorni e totalmente dopo 30 giorni. La parte liquefatta si pigmenta successivamente di un giallo ambraceo; la colonia è abbondante in superficie ma non forma pseudesclerozi.

Proprietà enzimatiche

Inversione del saccarosio: Il fungo è coltivato sul seguente terreno: acqua 1000; KNO_3: 2 gr.; $(NH_4)_2\ PO_4$: 2 gr.; più il 2 % di saccarosio; pH = 6,8. Si ebbe reazione positiva con il Fehling dopo 7 giorni a 26° C nonostante il ridotto sviluppo della colonia, non emersa, bianca, di 5 cm. circa di diametro, in matracio Erlermayer con 100 cc. di soluzione di partenza. Controllo negativo.

Idrolisi della pectina: La stessa soluzione indicata è usata sostituendo al saccarosio pectina di commercio, dei Dott. Fraenhel e Laudau di Berlino. Il fungo vi vegeta bene a 26° C. raggiungendo un notevole sviluppo con feltro spesso esteso a tutta la superficie del matraccio. La soluzione si va facendo lentamente più fluida e meno densa di quanto fosse al momento della semina e verso il 40° giorno si ottiene la reazione degli zuccheri col Fehling. La quantità di soluzione di partenza era la stessa della prova precedente. Controllo negativo.

Oltre questa ricerca, l'attività pectolitica fu saggiata ponendo grosse fette di patata e di carota in 100 cc. della soluzione di cui si è detto all'inversione del saccarosio. Le fette che avevano all'inizio uno spessore di circa 1 cm. si sono lentamente assottigliate fino a scomparire del tutto dopo 50 giorni circa dalla semina. Il fungo ha sviluppato rigogliosamente; le condizioni di prova sono le stesse delle precedenti. Controllo negativo.

Idrolisi dell'amido: Il fungo è coltivato nella seguente soluzione: (Czapek modificato) $K_2\ HPO_4$: 1 gr.; $M_g\ SO_4$: 0,5 gr.; KCl: 0,5 gr.: $FeSO_4$: 0,01; $NaNO_3$: 2 gr.; acqua 1000; e amido per il 2 %. Lo sviluppo del fungo raggiunge dopo 15 giorni la superficie disponibile. Il liquido saggiato con Lugol dà la reazione delle amido-destrine; dopo 25 giorni la reazione delle acrodestrine. La reazione del Fehling è positiva dopo 32 giorni. Le condizioni di coltura ed allestimento sono le stesse delle precedenti.

Estrazione dell' enzima: Si è sperimentato anche la liberazione ed estrazione dell' enzima dell' invertasi procedendo in tal maniera. Il liquido di colture di 3 mesi di età, allestite per le prove di cui a pag. 45 e contenenti saccarosio in partenza, viene filtrato alla candela Chamberland 17, ed il filtrato è usato in parte direttamente ed in parte è precipitato con alcool assoluto aggiunto in proporzione del 95 % del volume. Questo precipitato è essicato in essicatore ad acido solforico e disciolto successivamente in acqua sterile, che viene in tal guisa sperimentato insieme al filtrato, sulle soluzioni di saccarosio indicate precedentemente nelle propor-

Fig. 6

zioni di 1 cc. per 100 cc. di soluzione. Dopo 7 giorni si ha in tutte e due le prove la reazione del Fehling.

Gli stessi estratti enzimatici vengono provati rispettivamente sulle soluzioni di pectina e di amido dette sopra con resultato negativo. Ciò può essere messo in rapporto al fatto che l'estrazione dell'enzima è stata fatta su soluzioni contenenti solo saccarosio, in modo che il fungo non aveva prodotto altri enzimi. Per altro la raccolta dell'enzima con il metodo sopradetto (precipitazione con alcool) non ha avuto esito nella coltura in amido. È probabile che l'enzima dell'invertasi sia il più abbondante e di più facile separazione nelle condizioni esposte.

Ricerche chimiche sui prodotti del metabolismo del fungo

Queste analisi sono state condotte in maniera analoga a quanto era stato fatto precedentemente da uno di noi [Baldacci] (6). Il fungo è stato coltivato pertanto sulla soluzione già sperimentata in dette

prove e così composta; Acqua 1000, saccarosio 20, nitrato potassico 10, fosfato bipotassico 1; cloruro di calcio 0,3; solfato di magnesio 0,3; cloruro di sodio 0,1; cloruro ferrico 0,01. La scelta di questo terreno ci è suggerita dal fatto di poter riferire e comparare questi resultati con quelli già ottenuti in precedenza, con altre specie fungine.

La soluzione è distribuita in 10 matracci Erlenmayer di cui 6 da 1000 cc. con 400 cc. di liquido e 4 da 500 cc. con 150 cc. Il fungo vi è coltivato, previa sterilizzazione, per circa 100 giorni a temperatura di 26° C., per i primi 30 giorni e a 18° per il rimanente tempo. Lo sviluppo assunto al 30° giorno è abbondante e ricopre, ad eccezione di due matracci grandi, tutta la superficie disponibile, con un feltro di spessore di 3-4 mm. La formazione di psèudosclerozi è già iniziata.

Le analisi esposte a seguito sono state compiute sui filtrati a candela dei liquidi di colture al 100° giorno circa di età.

Idrati di carbonio: — Metodo: riduzione con il liquido di Fehling. (L'inversione del saccarosio di partenza è peraltro completa, come è provato dall'acedificazione con acido cloridrico e trattamento con Fehling con esito negativo).

Nitrati: + Metodo: al liquido in esame si aggiunge il doppio di a. solforico conc., si stratifica su questo una soluzione satura di solfato ferroso preparata al momento. Fra i due liquidi si forma un anello bruno di nitrosilsolfato ferroso.

Nitriti: — Metodo: Al liquido in esame si aggiunge a. acetico glaciale; si stratifica sopra una soluzione satura di solfato ferroso preparata al momento. Non si forma anello bruno.

Ammoniaca: — Metodo: I vapori del liquido portato alla ebolizione non azzurriscono la cartina di tornasole.

Azoto organico: 0,07 %. Metodo: 25 cc. del liquido sono concentrati in pallone e poi posti in stufa fino ad essiccamento. L'azoto è determinato successivamente con il metodo del Kijeldahl.

Albumina: — Metodo: Si acidifica il liquido con a. acetico e si riscalda. Non si ha intorbidamento.

Alcaloidi: — Metodo: non si ottiene precipitato con il reattivo di Meyer.

Azoto purinico: — Metodo: si alcalinizza con soda e si acedifica con acido acetico, si riscalda a 70°-80° C. Si aggiunge 5-10 cc. di soluzione di solfato di rame al 10 % e si fa bollire per 3 minuti. Non si ha precipitato.

Urea: — Metodo: Il filo di rame bagnato del liquido e scaldato alla fiamma non da colorazione verde-azzurra.

Ricapitolando, il fungo assimila rapidamente saccarosio, che è invertito come sappiamo, meno rapidamente i nitrati. Si origina azoto organico, ma non di natura purinica, come è stato riscontrato nelle precedenti richieste (Baldacci 6) per l' *Helminthosporium oryzae* e come ha trovato Cappelletti (25) per una *Rhizoctonia* sp.

Oltre le dette analisi si effettuarono altre ricerche sul residuo del distillato dei liquidi di coltura e precisamente:

Ricerca degli albuminoidi: — Metodi: *a*) Il residuo ottenuto dalla concentrazione del distillato, viene ripreso con piccole quantità di HNO_3 dil. (3 p. di HNO_3 e 1 p. di H_2O). In presenza di albuminoidi si forma una colorazione gialla dovuta alla formazione di a. xantoproteico, che viene sviluppata maggiormente con aggiunta di piccole quantità di NH_3 (formazione di xantoproteinato di NH_4).
Questa reazione è data dai proteidi, nuclei fenolici, indolici (tirosina e triptofano).

— *b*) HCl conc. a caldo fornisce una reazione più o meno intensa variante dal rosso al violetto con le materie albuminoidi. La sensibilità della reazione è aumentata con l'aggiunta di traccie di H_2SO_4 conc.

— *c*) Il reattivo di Millon a caldo dà una colorazione rossa non specifica.

— *d*) H_2SO_4 conc. e saccarosio (Pettenköfer) forniscono una colorazione rosso carminio sia con gli albuminoidi sia con alcuni alcaloidi.

— *e*) Reazione del biureto: colorazione violacea per i proteidi, rossa per i peptoni.

— *f*) L' a. picrico in soluzione acquosa satura colora in giallo gli albuminoidi.

Ricerca degli alcaloidi: — Metodo: *a*) Rettivo di Erdmann (a. solforico e nitroso). *b*) Reattivo di Fröhde (a. solfomolibdico). Questi reattivi in presenza di alcaloidi danno reazioni colorate.

Ricerca delle amine volatili: — Metodo: reazione negativa dell'azoto.

Tutte le analisi hanno avuto esito negativo; si sono potuto sole caratterizzare delle sostanze a carattere acido, di natura alifatica, che all'azione del calore lasciano deposito carbonioso, e consumano carboniato di sodio.

Proprietá tossiche

Le proprietà tossiche del liquido di coltura del fungo sono studiate sia nei riguardi dello sviluppo del fungo stesso sia sulla germinabilità di semi.

Per le prime prove il fungo fu coltivato sulla stessa soluzione minerale indicata a pag. 45, distribuita in matracci e aggiunta per ogni 100 cc. rispettivamente con:

a) 10 cc. di liquido di coltura del fungo di 3 mesi di età.

b) 30 cc. di liquido c. s.

c) 10 cc. di liquido di coltura del fungo di 3 mesi di età sterilizzato in autoclave per 15′ a 1 atmosfera.

d) 30 cc. di liquido c. s.

e) 30 cc. di liquido di coltura del fungo bollito per 5′.

Il fungo sviluppa a 26° C., su tutti i matracci eccetto in *a*), dopo 2 giorni formando una colonia bianca galleggiante ramificata. Al 3° giorno lo sviluppo è compiuto anche in *a*) ma in proporzioni minori. In tutte le colture si osserva, oltre ad una colonia superficiale, anche una massa immersa fioccosa. Al 5° giorno le colonie in *c*) e *e*) hanno già raggiunto il diametro massimo consentito dal matraccio; in *d*) la colonia è poco più piccola. Più ridotto ancora in *a*) e in *b*). Al 9° giorno le colonie sono apparentemente in condizioni eguali, in nessun caso si sono formati pseudosclerozi sulle pareti del vetro. Questi si hanno più avanti e in scarsa quantità solo in *b*). L'esperienza si protrae fino al 45° giorno, alla quale data i feltri vengono essicati in stufa ed in essicatore fino a peso costante. Si ottengono i seguenti resultati:

b)	peso del feltro micelico dopo 45 giorni di coltura.				gr.	0,850
c)	»	»	»	»	»	0,845
d)	»	»	»	»	»	1,055
e)	»	»	»	»	»	1,070

La coltura in *a*) non si è potuta pesare essendosi distrutta durante la manipolazione, tuttavia lo sviluppo assunto non era superiore apparentemente a quello di *b*). Dall'andamento dell'esperienza si può rilevare forse uno scarso effetto ostacolante del liquido di coltura sullo sviluppo del micelio nel periodo di crescita sperimentato. Aggiungeremo ancora alcune osservazioni sull'aspetto delle colture che avevano modificato il colore nocciola in grigio cinereo fin dai primi giorni di coltura, e presentavano inoltre uno stroma intero rilevato sulla massa del micelio senza formazione di sclerozi isolati, ad eccezione in *b*) dove si erano formati in scarsa quantità sul vetro. Il liquido si presentava pigmentato solo in *d*) e *e*).

Fig. 7

Sul liquido furono fatti le seguenti analisi chimiche:

Il pH è in tutti oscillante fra 8,2-8,3. Sono scomparsi i nitrati, mentre è ancora presente glucosio sebbene il saccarosio sia del tutto invertito. Non è presente ammoniaca, nitriti, e azoto organico. Le ceneri costituiscono l'0,2 % del liquido e rivelano la presenza degli anioni: PO_4, Cl, SO_4. Questi resultati sono in parte diversi da quelli ottenuti nelle analisi precedenti. In particolare si deve rilevare la scomparsa dei nitrati, che sono stati rapidamente assimilati in queste condizioni.

Nelle prove di tossicità per i semi furono sperimentati cariossidi di grano Mentana, semi di pisello, acquistati sul mercato di Pavia, e di fagiolo. Quest'ultimi rappresentati dalla stessa varietà con cui sono state compiute le nostre precedenti prove (Baldacci 5, 7) e quelle di vaccinazione della scuola di Carbone,

fornitici dalla Ditta De Coppet, e nominati " fagiolini rampicanti per baccellini dei colli del Lario „.

I semi vengono posti a germinare in scatole Petri sui seguenti liquidi:

1° Residuo del distillato di cui si è detto alle analisi a pag. 46.

2° La porzione distillata di detto liquido tornata a raccogliere con serpentino.

3° Filtrato Chamberland L 13 del liquido di coltura in soluzione minerale (pag. 45).

4° Controllo in acqua.

I liquidi non sono usati in diluizione; i resultati sono esposti nella tabella II.

Tabella II.

	semi in prova	N. dei semi	Data di semina	N. semi nati il 18-3-38	Osservazioni
residuo	fagioli	20	14 - 3 - 38	0	Il liquido è posto in quantità da ricoprire interamente i semi
	piselli	20	»	0	
	grano	50	»	0	
distillato	fagioli	30	c. s.	0	c. s.
	piselli	30	»	28	
	grano	50	»	40	
filtrato Chamb.	fagioli	30	c. s.	0	c. s.
	piselli	30	»	0	
	grano	50	»	18	
controllo acqua	fagioli	30	c. s.	1	c. s.
	piselli	30	»	29	
	grano	50	»	45	

Si può rilevare che la germinazione è completamente arrestata nel residuo e nel filtrato, come suggerisce anche l'aspetto dei semi e il loro colore. Il grano solo riesce a sviluppare scarsamente nel

filtrato. I fagioli germinano molto lentamente come ha dimostrato il controllo, ma mentre qui vi sono numerosi apici germinativi fuoriusciti, questi mancano completamente nelle due prove suddette. Nei distillato sembra mancare qualsiasi azione tossica, oltre che per i piselli e il grano, anche per i fagioli che hanno aspetto normale e apici germinativi nascenti. Il ritardo di germinazione presentato dai semi di fagiolo nei confronti con le prove precedenti (Baldacci 4, 6) si deve con ogni probabilità alla diversa epoca stagionale e quindi alla diversa temperatura della stanza di esperimento. Così le precedenti prove furono compiute nel periodo estivo, le attuali in marzo.

L'azione antigerminativa esplicata non può essere riferita nel caso presente alle sostanze puriniche che non si sono riscontrate all'analisi chimica. Limitatamente al residuo del distillato si è constato la presenza di sostanze alifatiche a carattere acido. Probabilmente oltre che alla presenza di dette sostanze l'azione tossica è da porre in rapporto alla concentrazione osmotica dei liquidi come sembrerebbe risultare dal fatto che i semi a più rapido potere germinativo ne risentano meno. (grano)

Prove di patogenicitá

La patogenicità del ceppo in studio fu riferita solo sommariamente nella precedente nota (Baldacci 5, 7). Riferiamo adesso particolarmente sugli esperimenti fatti sia nel primo sia in questo secondo lavoro.

Inoculazioni su patata.

1ª serie. La patogenicità fu saggiata inoculando il fungo in una cavità della polpa ricavata ritagliando con lancetta sterile un piccolo tassello triangolare, che veniva smozzato nella parte a cuspide prima di essere ricollocato a posto. Le labbra della ferita erano chiuse con collodio. Le patate inoculate erano in numero di 12, di cui 6 furono poste in termostato a 26' C. e 6 in stanza a 18-22° C.. N° 2 patate incise come le altre e non inoculate servirono di controllo. Le inoculazioni furono fatte alla fine del luglio 1937 e le patate furono lasciate nelle condizione dette a tutto il settembre dello stesso anno, senza che all'esterno si manifestassero sintomi di malattia. Sezionate, in nessun caso fu constatato l'attecchimento del fungo.

2ª serie. Nel corso delle nuove esperienze furono inoculate patate germoglianti, alla base del gettone nato da gemme sane, con ferita

asettica. Le patate furono mantenute in camera umida, costituita dalla cavità di un grande essicatore, saturato d'acqua e alla temperatura di 18°-20° C. Le patate erano in numero di 4 con 2 inoculazioni per ciascuna. Esse rimasero in osservazione dalla fine di gennaio alla fine di febbraio del 1938, senza che si verificasse nessun attecchimento.

3ª. serie. In due grandi vasi da giardino fu posta terra fertile, ed uno di essi fu sterilizzato in stufa a secco per un'ora a 160° C. Successivamente in ambedue furono collocati due ampi e spessi feltri micelici del fungo e dei tuberi di patata parte interi e parte se-

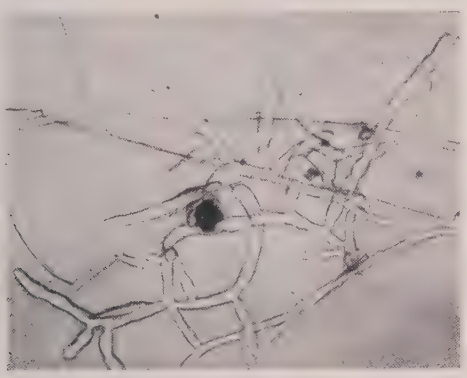


Fig. 8

zionati. I vasi furono posti in serra con temperatura minima di 26°. Dopo 30 giorni di soggiorno le patate mostrano lunghi germogli " filanti „ ma apparentemente sani. Scalzata la terra si verifica quanto segue:

Vaso sterilizzato: 2 tuberi interi ed uno dimezzato sono sani; 3 mezzi tuberi presentano: 2 una cancrena molle ed 1 una cancrena asciutta. In tutti i casi gli esami microscopici escludono la presenza del fungo in studio.

Vaso non sterilizzato: 4 mezzi tuberi sezionati ed 1 intero sono sani. 1 dimezzato presenta una cancrena molle. Non v'è traccia del fungo. Anche i germogli sono sani senza infezioni al piede.

Oltre queste prove, 3 mezzi tuberi furono posti in piccoli vasi con terra infetta dove avevano vegetato i piselli (v. a seguito) senza ottenere nessuna infezione.

Inoculazioni su begonie.

5 piantine di varietà di *Begonia rex*, coltivate in vaso nelle serre dell' Istituto Botanico furono inoculate per ferita sul fusticino alla base a pochi mm. da terra. La ferita era tenuta inumidita con cotone sterile bagnato avvolto attorno. Le piante erano tenute in stanza con temperatura da 20°-22° C. Le piantine inoculate alla fine del gennaio 1938 furono tenute in osservazione per due mesi senza che risultassero infettarsi.

Inoculazioni su piantine di fagiolo, pisello e grano.

1ª. serie. I semi di dette piante sono gli stessi già indicati a pag. 48 e furono posti a germinare in acqua e trapiantati dopo pochi giorni (4-5) in provette contenenti un sustrato così costituito: soluzione Pfeffer diluita al doppio, aumentata del 1 % di saccarosio e agarizzata con 1 % di agar. Queste prove sono analoghe alle precedenti nostre fatte per le piantine di riso (Ciferri e Baldacci 28) e simili a quelle effettuate da Castellani (26) e da Newton e Mayers (63, 64) per alcune Rizottonie. Contemporaneamente ai semi il terreno è inoculato con il fungo. Alcune piantine furono poste a dimora senza i cotiledoni, e tutte mantenute in stanza a 20° C. circa. I resultati sono esposti nelle tabelle III, IV.

Tabella III - **Piante di pisello.**

	dopo 7 giorni	dopo 15 giorni
Controlli: 2 piante senza cotiledoni	Le piantine vegetano scarsamente	Ancora vegetanti
5 piantine infettate senza cotiledoni	Le piantine sono completamente arrestate nello sviluppo	Morte
2 piantine infettate con i cotiledoni	Sviluppano discretamente senza manifestare la malattia	Ancora vegetanti

Tabella IV - Piante di fagioli.

	dopo 5 giorni	dopo 15 giorni
1 pianta infettata con cotiledone	È sviluppatissima, con fusticino oltre 10 cm.	Ancora vegetante
6 piante infettate senza cotiledone	Sono disseccate	—

Tabella V - Piante di grano.

	dopo 5 giorni	dopo 15 giorni
Controllo 3 piante senza cotiledone	Notevole sviluppo con fusticini alti 10 cm. circa	In buone condizioni
7 piantine infettate senza cotiledone	6 piantine sono assai debolmente sviluppate ed accennano ad appassire. La 7ª come i controlli ma il fungo non ha attecchito sull'agar.	Morte meno 1

Il fungo sviluppa discretamente ma lentamente sull'agar nelle prove di controllo senza piantine, formando una vegetazione bianca con masse stromatiche di color cinereo o giallognolo. L'asportazione del cotiledone si rivela fortemente dannosa per i fagioli e per i piselli per cui è difficile stabilire l'azione del fungo. Le piantine di grano sembrano risentirne molto meno.

2ª. serie. Le prove sono ripetute senza agarizzare la soluzione di coltura e senza asportare i cotiledoni. Ma i facili inquinamenti portati dietro dai semi stessi impedirono di constatare qualsiasi resultato con le piantine di grano e di fagiolo.

Delle 19 piante di pisello così inoculate si ebbe dopo 1 mese: 4 piante disseccate con sviluppo ridottissimo di fronte ai rimanenti e ai controlli. Il fungo era sviluppato nella soluzione di cui restava ancora una porzione mentre le radici erano invase dal micelio. N. 2 piantine erano disseccate ma la soluzione era inquinata con altre specie fungine. Le altre 12 erano in apparenza in buono stato e la soluzione completamente assorbita o evaporata.

Tuttavia intorno alla radice principale, riccamente ramificata, erano presenti alcune piccole masse stromatiche del fungo, con parziali od incipienti necrosi dei tessuti, limitate alla epidermide e soli in pochi casi interessante il cilindro centrale.

3ª. serie. Si trapiantano in vasetti di terra inoculata con il fungo delle piantine nate nei germinatoi e mantenute in stanza. Le piante di fagiolo in solo numero di 3, muoiono rapidamente disseccando, risentendo con probabilità del trapianto. Le piante di grano e di pisello vegetarono senza apparentemente risentire la presenza del fungo.

4ª. serie. Furono preparati 12 vasetti da giardino riempiti di terra fertile e sterilizzati per 1 ora 160° C.; successivamente la terra era inoculata con fragmenti di micelio fungino e di masse stromatiche. I vasetti furono mantenuti per 48 ore a 20° C. coperti con lastre di vetro e successivamente vi furono seminati divisi in tre lotti di 4 vasi, semi di fagiolo, pisello e grano. Per ogni lotto si tenne un controllo su terra sterile. Tutti i vasi furono posti in serra con temperatura minima 26° C.

Le piantine di fagiolo sono notevolmente sviluppate dopo 12 giorni nei 4 vasetti di esperienza per una altezza media di 15 cm., mentre nel controllo sono appena in germinazione. Analoghe ma meno sensibili differenze sono nei vasi di pisello e di grano (vedi a seguito). Questo maggior sviluppo delle piante in terreno sterilizzato è stato già riscontrato [v. Peyronel (74)]. Tuttavia ciò appare in contrasto con la presenza del fungo riscontrata in pari data sul fittone principale della radice. Il pensare ad una azione stimolante provocata in qualche modo dal fungo non pare azzardabile, anche se si ha a che fare con un genere di funghi a comportamento simbiontico od emiparassitario. La differenza di sviluppo si cancella nel giro di 10 giorni circa.

Le piantine di fagiolo presentano, come si è detto, dopo 12-15 giorni, delle macchie rosso o rosso-brune all'apice delle radici o lungo il fittone principale, di 3-4 mm. L'aspetto esterno delle piante nella parte aerea non presenta alterazioni nè segni visibili di malattia, ad eccezione di una leggera " filatura „. Le radici tranne le macchie descritte sono ramificate e sviluppano abbondantemente. Nel tessuto corticale delle zone necrosate è presente un micelio bruno e catenelle monilioidi tipiche del fungo. Non abbiamo trovato niente che corrisponda morfologicamente agli " arbuscoli „ nell'interno delle cellule. Dei 4 vasi uno fu usato per gli esami; due presentavano le piante quasi totalmente morte nel

giro di due mesi, il quarto alla stessa epoca aveva la maggior parte di piante ancora in discrete condizioni.

Le piante di pisello sono nate abbondantemente in un solo vaso, mentre negli altri 3 il rigoglioso sviluppo del fungo che appare alla superficie con ciuffetti bianchi, ha impedito la germinazione e l'ulteriore sviluppo dei semi che sono quasi totalmente distrutti. L'infezione ha inizio sia nel tessuto cotiledonare sia nell'embrione stesso e procede a forma di cuneo, che si allarga sempre più alla base, come ha dimostrato il Müller (59). L'epidermide resta tuttavia quasi sempre integra si che in definitiva il seme si

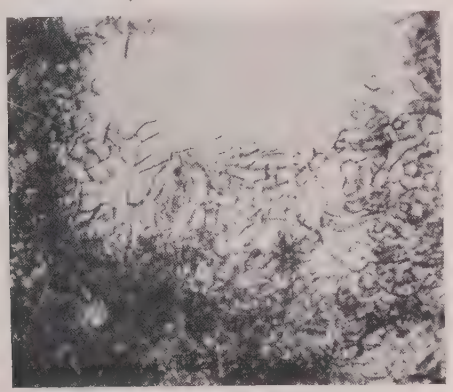


Fig. 9

presenta come svuotato all'interno. Nei semi germinanti e nelle piantine l'infezione si presenta con le stesse caratteristiche come nei fagioli. Nel 4° vaso le piantine sono verso il 12° giorno più sviluppate dei controlli. Esse si mantennero parzialmente in vita fino dopo 2 mesi, alla quale epoca solo la metà di quelle iniziali erano ancora vegetanti.

Le piante di grano risentirono meno inizialmente i danni della presenza del fungo, ma andarono più sollecitamente a morte, forse in dipendenza dell'ambiente. Anche nel caso del grano si constatò la presenza delle macchie corticali fungine e l'iniziale sviluppo delle piante maggiore su terreno sterile. Si rilevi inoltre il diverso comportamento di una *Rhizoctonia* isolata da Peyronel (72) dai cereali e che in prove sperimentali non condusse a morte la pianta nonostante la controllata invasione dei tessuti.

Da tutte le piante si potè con relativa facilità reisolare la *Rhizoctonia*; le colture erano però in massima parte inquinate con

una mucoracea, che era difficile eliminare. Non possiamo però asserire quanto ciò possa essere in rapporto con la presenza di un fungo ficomicete nelle simbiosi micoriziche riscontrato per la prima volta da Peyronel (72).

Il nostro fungo risulta in riassunto patogeno sotto precise condizioni di alte temperature e di umidità come si ha nelle serre — i vasi erano annaffiati inoltre giornalmente — per contro è completamente innocuo in tutte le condizioni sperimentate e nelle serre per i tuberi e le piante di patata.

Discussione dei resultati e diagnosi

Non v'è dubbio che lo studio morfologico e colturale del ceppo inteso a escludere definitivamente ogni rapporto con il g. *Botrytis* ha pienamente raggiunto lo scopo confermando quanto era stato asserito ma *non in via sperimentale* da Ruhland e da Duggar. Alcuni aspetti colturali e più alcuni aspetti morfologici del ceppo possono indurre in inganno solo osservatori supurficiali. Certe ramificazioni, come quelle della fig. 6, possono anche spiegarci fino ad un certo punto quale sia stata la causa dell'errata interpretazione. Se come è probabile le colture dei primi ricercatori (Prillieux e Delacrox, Beauverie e Guillermond) erano impure, l'apparire delle ife rampanti della *Rhizoctonia*, determinava un cangiamento della coltura e della morfologia che non poteva non essere rilevato. A parte tuttavia l'interpretazione di " forme variabili „ è strano che la *provata irreversibilità* della forma " toile „ non abbia messo in guardia gli stessi ricercatori.

Coloro che si dedicarono successivamente ai problemi di vaccinazione accettarono senza discussione l'affermazione dei due AA. francesi e senza indagini morfologiche del ceppo. Ciò appare tanto più grave, quanto essi lavorarono in paesi dove la malattia non era certamente nota con il nome francese. Ad eccezione infatti di Nobercourt (65) che lavorava in Tunisia, Carbone e gli altri sperimentarono in Italia, Alexandri (17, 18) in Rumenia e Kalajev (46) in Russia, dove abbiamo pure visto segnalare la malattia. Ora dato il genere delle ricerche, la conoscenza e lo studio delle manifestazioni " spontanee „ della malattia sembrerebbe dover essere necessariamente preliminare a quello delle infezioni sperimentali. Inoltre se è pur vero che il lavoro di Duggar (32) publicato in America poteva rimanere più o meno ignorato, è difficile comprendere come la critica del Rhuland (84) diretta in maniera assai precisa contro l'interpretazione del Beauverie (8) con ricerche sperimentali intese a dimostrare la

mancata possibilità di una trasformazione della *Botrytis cinerea* in *Moniliopsis Aderholdi* (vermehrungspilz) sia passata sotto silenzio e sia rimasta ignorata. Tuttavia documentati i fatti, non resta per il momento che cercare d' interpretare alla luce dell' esperienza, la nuova posizione sistematica e nomenclatoriale del fungo e discuterne alcuni aspetti che interessano il problema immunitario.

È fuori dubbio che il fungo entra a far parte del g. *Rhizoctonia*, ma più discussa e discutibile appare l' interpetazione specifica di esso.

Escluse le rizottonie simbionti, la *Rh. crocorum* da cui è caratteristicamente diverso, il fungo in studio manifesta sensibili identità con la *Rh. Solani*. Tuttavia a questo proposito è pregiudiziale a nostro avviso lo stabilire un ben definito rapporto fra *Moniliopsis Aderholdi* e *Rhizoctonia Solani*. Noi abbiamo riassunto le opinioni dei pochi sperimentatori che si sono pronunciati contro tale identità, ammessa dal Duggar per la prima volta. Più recentemente si rileva che la tendenza maggiore è quella di ammettere per la *Rh. Solani* forme diverse entro la specie. Ed in realtà la unità specifica di questa specie appare in accordo con il classico concetto di specie per la mancanza di caratteristiche morfologiche capaci di differenziare i vari ceppi. Contro questo, sta tuttavia il fatto dell'apparizione della forma perfetta in alcuni ceppi, mentre altri, il nostro compreso, non producono basidi e basidiospore, sotto le condizioni di sperimentazione effettuate; in tal modo l'unità specifica dei vari ceppi può essere constetata dalla mancanza di una fruttificazione della forma perfetta ed imporre di necessità almeno una nomenclatura specifica diversa per i ceppi di cui non si conosce detta forma. In prevalenza si interpreta invece l'assenza delle forma basidica come una perdita della capacità sessuale del fungo che si è adattato a vivere vegetativamente.

Altri caratteri differenziali fra i ceppi di *Rh. Solani* sono trovati nel potere patogeno e nelle attività chimiche. Nei riguardi del primo è singolare che tutti gli AA. che hanno avuto modo di sperimentare abbiano constatato la mancanza di infettività sulle piante di patata da parte dei ceppi isolati da ospiti diversi da queste. È ben vero che questo dato è — sotto questo aspetto — negativo, mostrandosi gli stessi ceppi patogeni per un vasto gruppo di piante diverse. Così nel nostro caso il fungo senza infettare le patate riesce tuttavia ad aggredire esemplari di leguminose e di graminacee. Tuttavia è accertata l' esistenza di una forma capace particolarmente di parassitare le patate. Occorre dunque ammettere che insieme alla perdita della fruttificazione basidica che in questa

forma è stata per la prima volta ritrovata ed è conosciuta, si sia avuta anche una attenuazione nei riguardi del potere patogeno verso detto ospite.

Il nostro ceppo presenta una debole capacità infettiva, e solo sotto particolari condizioni di alta temperatura e di umidità. La sua invasione nei tessuti è inoltre lenta e le piante vanno a morte con ritardo notevole. Dopo 2 mesi inoltre molte piantine coltivate in terreno infetto erano ancora vive, e ciò è tanto più notevole in quanto le piante erano allevate in un ambiente non confacente al loro natu-

Fig. 10

rale "habitat„. Questo comportamento è in accordo con i rilievi del Müller (58) che asserisce essere la *Moniliopsis* un fungo delle serre e dei letti caldi. Le nostre ricerche confermano che il "minimum„ di temperatura è assai alto (10° C.) ed il potere enzimatico in coltura, lento, (oltre un mese) ad eccezione del potere d'inversione dello zucchero. Il comportamento del fungo appare in definitiva quello di un emiparassita. Sul carattere di patogenicità hanno basato differenze come in è visto il Wallensiek (101) e Van Poetersen (100).

Molti AA., a cui abbiamo accennato nella parte generale, insistono sulla possibilità di distinguere in base ai caratteri fisiologici i molteplici ceppi di *Rh. Solani*; tuttavia di essi nessuno ci consta abbia tentato una interpretazione sistematica. Ciò è tanto meno

possibile a noi avendo limitato lo studio ad un particolare ceppo e a particolari fenomeni offerti da questo. Tuttavia rileviamo che se ciascuna differenza presa per se stessa non è tale da giustificare la creazione di specie, esse sommate insieme (mancanza della forma perfetta, non patogenicità per la patata, differente comportamento enzimatico e fisiologico) potrebbero giustificare la formazione di specie diverse dalla *Rh. Solani.* Di tale opinione non sembra essere invece lo Schultz (91) che ha studiato numerosissimi ceppi del Vermerungspilz e che egli ha distinto solo come varietà della stessa specie: *Rh. Solani.*

Comparando il nostro ceppo con i vari gruppi distinti dallo Schultz, notiamo che per i limiti di temperatura il fungo rien-

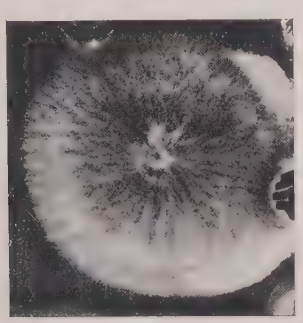


Fig. 11

trerebbe nel IV gruppo-Temperatura (limiti 10°-37° C.) e in cui l' A. distingue ben 3 varietà su 7 ceppi (gli altri 4 si ripartiscono in 2 varietà già definite con ceppi di altri gruppi). Per le caratteristiche morfologiche il nostro rientrerebbe invece nel I° gruppo-morfologico.

Fra le varie specie fatte invece recentemente da Castellani (27) ed isolate da matrici diverse, come fra le altre specie descritte precedentemente non esistono affinità con il nostro ceppo. Pertanto seguendo l' indirizzo maggiore, riterremo:

1° Il genere *Moniliopsis* sinonimo di *Rhizoctonia* e più precisamente seguendo Castellani (27) distingueremo quest' ultimo in due sottogeneri:

Eurhizoctonia Cast.

Typus: *Rhizoctonia* (*Eurhizoctonia*) *Crocorum* DC.

Moniliopsis (Rhul.) Cast.

Typus: *Rhizoctonia* (*Moniliopsis*) *Solani* K.

2° il binomio *Moniliopsis Aderholdi* Rhul. per l'impossibilità di essere distinto da caratteri definiti deve essere considerato sinonimo di *Rh. Solani* sensu latu.

3° il nostro ceppo deve distinguersi come una varietà della *Rh. Solani* con il termine:

Rhizoctonia Solani var. **Ambigua** nobis (*)

per le seguenti ragioni:

a) le errate interpretazioni e più gli studi particolari di " vaccinazione „ per i quali è stato largamente usato, conferiscono al ceppo un particolare valore che inducono a mantenerlo distinto al rango di varietà, anche se queste argomentazioni non sono rigorose a termine delle regole botaniche di nomenclatura.

b) differisce dalla *Rh. Solani* per l'assenza di forma perfetta, per la mancanza di patogenicità sulle patate, per caratteri fisiologici (temperatura di sviluppo) ecc. e per l'aspetto delle colture in piastre non presentanti mai zonature.

c) differisce dalla *Moniliopsis Aderholdi* per i valori biometrici delle cellule monilioidi, 12,5-18-20 = 10-12,5 nel nostro contro 15-23 = 11-17,5 nella prima. Non è nota la patogenicità sull'asparagio da cui è stato isolato il ceppo di Rhuland.

Riuniamo nella tabella VI le caratteristiche della nostra varietà, quali risultano dallo studio effettuato e passiamo a discutere le attività patogenetiche e biochimiche in rapporto anche alle ricerche di vaccinazione effettuate con questo stipite.

Il nostro fungo non è patogeno per la patata e lo è mediocremente per le piante di fagiolo, pisello e grano, sotto precise condizioni di ambiente. Per quanto riguarda le piante di fagiolo che sono le più usate negli esperimenti di vaccinazione, risulta che le piante vanno a morte in un tempo piuttosto lungo (2 mesi) e solo parzialmente nelle coltivazioni in serra. L'attecchimento per ferita sui tessuti delle pianta a 18-20° C. non é sempre positivo nelle nostre prove e più spesso fallisce. Questo è in contraddizione con quanto asseriscono Nobercourt (65) e Carbone (15-24) che ottengono costantemente l'attecchimento nei fagioli di controllo (non vaccinati). L'Arata (2) aveva invece constatato tale difficoltà.

(*) Diagnosi: *Rhizoctonia Solani* var. *ambigua* Baldacci E. e Cabrini E. His rebus a specie differt, quod forma perfecta caret, quod nulla ei inest vis ingenerandi morbum in plantis Solani tuberosi, quod eius culturae diversae apparent, quod denique suam ipsius quamdam vivendi rationem habet.

Tabella VI

Tabella riassuntiva delle principali caratteristiche della Rh. Solani var. ambigua nobis

Morfologia: ife ialine e poi brune, isodiametriche; catenelle di cellule monilioidi dello stesso colore; pseudosclerozi.

Caratteri biometrici:

Diametri delle ife allungate:	da 6-8, 7-10 μ = 12,5 μ
Distanze fra i setti:	da 70 a 210 μ
Diametri delle cellule monilioidi:	da 12, 5-18-20 μ = 12,5 μ
Sclerosi riuniti in masse	di 1-3 mm.
Sclerozi in coltura	di 5-10 mm.

Caratteri colturali: micelio prima bianco e poi giallognolo fino a nocciola, in qualche caso cinereo; sclerozi piccoli puntiformi riuniti in masse, o più raramente isolati, rotondi, sulla coltura.

Sviluppo facile su tutti i terreni, compresa l'acqua sterile, la carta da filtro, e la terra.

Caratteri fisiologici:

Ottimum, 26-30°; minimum maximum termico: da 10°- a 37° C.

Concentrazione idrogenionica: pH = 7. Non sviluppa in concentrazioni acide con pH = 2,9. Sviluppa da pH: 4,5 a 8,2.

Liquefazione della gelatina:	+
Potere riduttivo nitrati:	—
Invertasi:	+
Pectinasi:	+
Amilasi:	+

Caratteri di nutrizione:

Assimilazione del saccarosio:	++
glucosio:	++
peptone:	+++
nitrati:	+

Caratteri di patogenicità:

Infezioni artificiali su patata:	—	
fagiolo:	+	(in condizioni di alta temperatura e umidità, in serra)
pisello:	+	
grano:	+	

Il Pasinetti (70) constata l'attecchimento solo in camera umida su semi germinanti di pisello.

Le infezioni su patata in campo sono favorite secondo alcuni AA. [si cfr. Peyronel (73)] dalla siccità primaverile mentre nel caso nostro il massimo di infettibilità è ottenuto nell'ambiente caldo umido delle serre. Il contrasto è forse solo apparente in quanto le alte temperature diurne della serra esposta a mezzogiorno e l'atmosfera fortemente satura determinano nelle piante allevatevi le stesse o analoghe turbe prodotte degli sbalzi diurni e notturni durante il periodo primaverile siccitoso. Si deve ritenere che anche in serra la condizione di infezione sia la stessa e cioè una esoo-

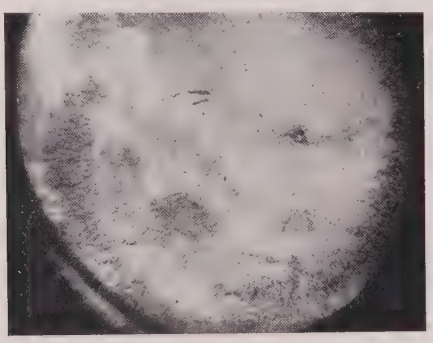


Fig. 12

smosi di acqua e di sostanze citoplasmatiche provocata dalla ridotta traspirazione per l'ambiente saturo e dal continuo affluire di acqua nelle piante dal terreno annaffiato giornalmente. In tal modo il fungo riesce a stabilire un contatto più intimo con i tessuti corticali e successivamente favorito dal minore turgore delle cellule dell'ospite penetra nell'interno per una azione enzimatica e tossica. Il risultato diverso sulle patate oltre che ad un potere specifico mancante nel fungo può essere spiegato per le prove in serra con il ridotto sviluppo radicale di queste nei confronti del grano, pisello e fagiolo il cui apparato radicale costituiva un fitto ed imponente intreccio nella terra dei vasi. La mancanza di uno sviluppato sistema di radici poneva le piante a risentire meno le variazioni traspiratorie e osmotiche suddette.

Delle esperienze effettuate con altri ceppi è interessante riferire le conclusioni a cui arriva il Richard (79-80) che usò un ceppo designato come *Corticium vaguum*. Secondo questo A. le esigenze di

temperatura per l'azione patogena sui vari ospiti risultano in definitiva come caratteristiche fisse ereditarie del fungo, più o meno indipendenti dalle relazioni di temperatura dell'ospite sul quale diventa parassita. Così con il ceppo in prova egli otteneva a 18° C. la distruzione dei tessuti sia su patate, sia su fagiolo, pisello e cotone. Il Thomas (97) trova un parallelismo fra la patogenicità di varii ceppi di *Rhizoctonia*, e il minimum di temperatura richiesto per lo sviluppo in coltura. Elmer (35) trova differenze nel comportamento patogeno verso le stesse piante di patata, operando con ceppi pure isolati da patata.

Nell'Australia Hynes (44, 45) trova che ceppi di *Rhizoctonia* (*Corticium solani*) isolati da cereali e da patate sono capaci di impedire la crescita del grano e dell'avena, sulle quali piante lo sviluppo del fungo è favorito da temperature relativamente basse. L'umidità secondo Richter (81), non avrebbe influenza. Più importanti sono le conclusioni a cui arrivano Newton e Mayer (63, 64). Questi AA. sperimentarono con il metodo delle colture su agar e su terra di giardino, trovando sensibili differenze nel comportamento delle piante sperimentate. Difatti mentre il grano, l'avena, il trifoglio ecc. coltivate in agar soccombevano agli attacchi del fungo, in terra erano resistenti; per contro piselli, fave, veccie ecc. sono invece mediocremente o altamente suscettibili in terra, e in agar. Essi negano al metodo delle colture in agar le possibilità di raggiungere buoni resultati.

L'azione patogena è riferita ad enzimi o a sostanze tossiche. Mentre sui primi, esiste una notevole letteratura, le esperienze relative alle seconde sono scarse. Oltre le nostre prove, sperimentarono a questo scopo gli stessi Newton e Mayer (64), i quali constatarono effetti dannosi sulle piantine allevate in soluzioni nutritive in cui erano aggiunti filtrati di coltura di *Rhizoctonia*, normali o sterilizzati. La " tossina „ per così dire, è resistente all'autoclave (!). Lo sviluppo delle piantine allevate in sabbia è ridotto a 2/3 per le carote, 1/2 per la rapa e scarso o nullo per il grano, di fronte ai rispettivi controlli. Anche gli estratti del micelio sterilizzato in autoclave sono dannosi nelle diluizioni di 1 %, 5 %, 25 %. Ciò induce gli scrittori a credere, che il fungo segreghi durante lo sviluppo una tossina stabile al calore che è presente pure nel micelio. Essa può servire a valutare l'immunità relativa delle specie di piante e delle varietà con questo fungo, perchè è dimostrato che la carota e la rapa piantate su terreni infetti artificialmente dal fungo sono impedite di crescere e di sviluppare, mentre nelle stesse condizioni il grano non ne risente.

Cappelletti (25) e poi Castellani (26) costatarono la presenza di sostanze tossiche sui liquidi colturali di alcune *Rizoctonia*, in base alla influenza che i prodotti del ricambio fungino avevano sulla traspirazione. Ambedue concordano, sebbene le modalità della esperienza siano diverse e diverse le piante in esperimento, che in dosi elevate tali prodotti sono dei paralizzanti della traspirazione. In particolare il Castellani trova per un ceppo di *Rh. Solani* valori eguali a quelli delle piante di controllo, mentre per le altre specie tali valori sono più bassi. Ne discenderebbe che o tale specie non produce " tossine „ o che queste sono paralizzate da

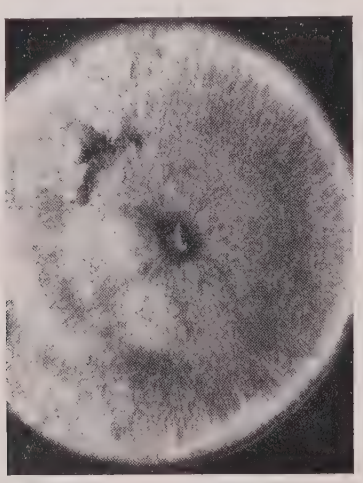


Fig. 13

altri principi. D' altro lato questo ceppo di *Rh. Solani* è secondo l'A. fra i più patogeni e fra quelli che possiedono maggiore attività diastasica. La sua patogenicità apparirebbe quindi in relazione, anzichè a tossine, ad azione enzimatiche.

Noi non abbiamo sperimentato su piante, ma abbiamo constatato in precedenza (Baldacci 5) che le piantine sottoposte ai trattamenti detti vaccinanti risentono oltremodo l' azione tossica perchè " le radici sono pressochè morte per dissecamento o necrotizzate „ e il fusticino manifesta " un ridotto sviluppo in altezza nei confronti dei controlli „. Analoghi resultati si sono osservati con altre specie fungine in prove simili (Baldacci 4, 6). Nelle esperienze descritte in questo lavoro il ceppo mostra una

attiva tossicità sui semi di pisello, di fagiolo e su cariossidi di grano limitatamente al filtrato e al residuo del distillato.

Questi resultati concordano con quelli di Schaffnit e Lüdtke (85) che ricercarono l'azione che i liquidi colturali di *Fusarium vasinfectum*, *F. lycopersici* e *Didymella lycopersici*, e *Ophiobolus graminis*, hanno su semi e piantine diverse. Anche essi constatarono una azione tossica del residuo del distillato di tali liquidi sui semi germinanti, e che attribuiscono ad amine. Tuttavia essi non hanno effettuato analisi chimiche e si limitano solo a constatare un andamento parallelo nelle prove effettuate con amine sintetiche. Le nostre ricerche escludono, come si è visto le amine volatili e trovano presenti sostanze acide, di natura alifatica. D'altra parte la prova biologica con sostanze sintetiche non può essere definitiva poichè molte altre sostanze, urea, basi puriniche ecc. possono impedire la germinazione regolare dei semi.

L'azione tossica può essere esplicata verso la stessa crescita del fungo e Matsumoto (54, 55) riferisce come tali sostanze siano uccise con il calore. Le nostre esperienze confermerebbero una debole diminuzione dell'incremento di sviluppo del fungo nelle soluzioni contenenti tali sostanze, che apparirebbero termolabili, contrariamente alle osservazioni di Newton e Mayers (64), secondo i quali le tossine resistono a 20 libre di pressione per 1 ora.

Sulla natura delle sostanze tossiche abbiamo già detto l'opinione di Schaffniff e Lüdtke, non confermata da noi. È esclusa altresì nel caso nostro la presenza di basi puriniche, che pure erano abbondantemente presenti nel liquido di coltura di una *Rhizoctonia*, secondo Cappelletti (25), e che sono state ritrovate da noi medesimi in altre ricerche (6). La natura di queste sostanze è forse diversa da specie a specie e la presenza di basi puriniche può essere in rapporto e al sustrato e all'età della coltuta.

L'azione patogenetica riferita ad enzimi, è assai più dimostrabile, data la facilità con cui si può osservare anche in coltura. Matsumoto (54) trova presenti amilasi, invertasi, emulsina, pectinasi, e conferma l'azione liquefacente della gelatina. Egli ne stabilisce anche il potere d'azione in vari ceppi e in rapporto alla età e alla nutrizione, al pH del substrato. Il potere patogeno è attribuito oltre all'azione diastasica, anche alla pressione esercitata dalle ife nella penetrazione cellulare dei tessuti delle piante. Così il Müller (58) rileva il forte potere osmotico delle ife della *Moniliopsis*. Edward e Newton (34) stabiliscono che l'azione diastasica in coltura è influenzata dalla natura dei composti azotati del sustrato: essa è forte con peptone; l'aggiunta di nitrato e sali d'ammonio non ne pro-

voca l'aumento. L'azione è debole su mezzi contenenti nitrato di K, e solfato d'ammonio, urea. Nelle nostre prove, amilasi, invertasi e pectinasi mostravano di agire sia pure lentamente anche in soluzioni azotate con nitrati.

Tutto ciò dimostra in definitiva quali siano le modalità di attacco del fungo nei tessuti delle piante: in un primo tempo il potere aggressivo sarebbe esercitato dalla pressione delle ife contro i tessuti, e quasi contemporaneamente dalla funzione diastasica che attacca le lamelle mediane disgregando i tessuti. Per ultimo agirebbero sostanze tossiche che determinerebbero la necrosi delle cellule. Anatomicamente il processo già illustrato dal Müller (58) procede a punta o a cono, allargandosi sempre di più alla base.

I processi immunitari determinati artificialmente con i trattamenti vaccinanti dovrebbero quindi riuscire a impedire le fasi suddette o almeno alcune di esse. Essi dovrebbero cioè aumentare il potere osmotico della pianta per bilanciare quello notevole del fungo; arrestare l'azione enzimatica e paralizzare quella tossica. Tuttavia come l'assorbimento dei filtrati di coltura che necrotizzano rapidamente la radice e riducono lo sviluppo delle piante, possano determinare tali fenomeni non è stabilito nè dimostrato ed è invece evidente che il problema delle ricerche di vaccinazione, a parte le contraddizioni ed i metodi d'indagine, debba essere ripreso su basi diverse in considerazione dei nostri risultati, e cioè:

a) cognizione della vera natura del fungo in esperimento;

b) cognizione del suo potere patogenetico e dei mezzi esplicati per lo scopo (azione osmotica, enzimatica, tossica);

c) ricerche sull'azione esplicata dai filtrati usati come vaccini nelle piante in vista della costituzione chimica di essi;

d) infine prove di " vaccinazione „.

RIASSUNTO

L'A. avendo precedentemente riconosciuto che in numerosissime esperienze di vaccinazione si è fatto uso di un ceppo qualificato come *Botrytis cinerea* ceppo " toile „, il quale altro non è che un ceppo di *Rhizoctonia*, si propone in questo lavoro di studiare specificamente il fungo suddetto in rapporto anche ai problemi connessi alla " vaccinazione „ delle piante.

Sono così in primo luogo illustrate le vicende sistematiche del ceppo ed esposti i suoi rapporti con la " malattia della tela „ della quale il fungo è ritenuto agente causale nonchè con il Vermehrungspilz (*Moniliopsis Aderholdi*) e con la *Rhizoctonia Solani*.

Sono successivamente studiati:

1.° la morfologia, e i caralteri colturali e i caratteri biochimici, mentre la ricerca della forma perfetta del fungo dà esito negativo.

2.° Le attività enzimatiche in cui si riscontra notevole attività di invertasi, amidasi, pectinasi.

3.° I prodotti del metabolismo fungino, in cui a differenza di precedenti ricerche su altri ceppi e specie, non sono riscontrate basi puriniche. È constatata invece l'azione antigerminativa dei liquidi di coltura del fungo per le cariossidi di grano e i semi di pisello e fagiolo ed un potere tossico scarso nei riguardi delle stesse colture del fungo.

4.° La patogenicità è riscontrata per le piantine di fagiolo, grano e pisello in condizioni di alta temperatura ed umidità nelle serre. Non attacca le piante di patata anche in tali condizioni.

Da questi resultati e dall'esame critico della letteratura in argomento, si conclude:

1.° che il fungo in esame considerato finora una *Botrytis cinerea,* debba essere ritenuto una varietà della *Rhizoctonia Solani* e contraddistinto come *Rh. Solani* var. *ambigua.*

2.° che debba essere accettata l'identità fra *Moniliopsis Aderholdi* e *Rh. Solani.*

3.° che i processi di " vaccinazione „ compiuti con detto ceppo debbano essere ristudiati tenendo in conto della vera natura del fungo, della sua posizione sistematica e delle sue proprietà enzimatiche, tossiche e patogenetiche messe in luce dal presente studio.

SUMMARIUM

A. morphologice, culturaliter, biochemice describit caespitulum *Rhizoctoniae solani*, usque adhuc adhibitum veluti vaccinum sub falsis nominibus *Botrytidis cinereae.* Cui fungo ab A. proponuntur haec nomina: *Rhizoctonia solani* var. ambigua n. var.

SUMMARY

Many classical experiences of plant " vaccination „ were made with a strain conventionally determined as *Botrytis cinerea*, " toile „ strain, a fungus that the Author determined as a strain of *Rhizoctonia.* In this paper the relations between this correct determined fungus and plant " vaccination „ are exposed.

At first the systematic history of *Rhtzoctonia Solani* in relation with the classical strain above qnoted, with the " toile „ disease and with the " Vermehrungspilz „ (*Moniliopsis Aderholdi*) are briefly sketched.

Cultural, morphological and biochemical study of this fungus is made; no perfect stage has been found. A notable enzymatic activity in regard to invertase, amylase and pectinase has been adscertained. The study of metabolic products of this fungus does not revealed the presence of purinic compounds, while an anti-germinative power of cultural solutions against wheat, pea and bean (together with a reduced toxic power against cultures of the same fungus) was found.

The pathogenetic activity on wheat, pea and bean seedlings is found only in greenhouse, under environmental conditions particulary favorable (high humidity and temperature). Under the same conditions, negative results on potato were obtained.

According the results above quoted, and from the revision of the literature on this subject may be concluded that the fungus up to now considered be *Botrytis cinerea* (Beauverie, Carbone and AA. strain) must be referred to a variety of *Rhizoctonia solani* (*R. solani* var. *ambigua*), the species being identic to the *Moniliopsis Aderholdi*. The so called " vaccination „ processes made with this strain are to be revised on the light the results on the nature of the fungus, on the systematic position, on enzymatic and toxic properties and on the pathogenetic power of the same.

BIBLIOGRAFIA

(1) Aderhold R. — Ueber den Vermehrungspilz, sein Leben und seine Bekämpfung. Gartenflora 46, p. 114-126, f. 1-5, 1897.
(2) Arata M. — Il meccanismo dell'immunità nei vegetali. Bull. Ist. Sieroterapico Mil. XIV, 6-7, p. 38 (estratto) fig. 1-26, 1935.
(3) Baehr U. — Beizversuche. Gartenwelt, XXIX, 43, p. 720-722, 1925.
(4) Baldacci E. — Ricerche intorno alla cosidetta vaccinazione nelle piante. Atti Ist. Bot. Pavia, s. IV, v. VII, p. 1-58, fig. 1, 1936.
(5) — Osservazioni e ricerche sulla vaccinazione delle piante di fagiolo con il fungo del « mal della tela ». c. s. v. X, p. 12 (estratto) 1937.
(6) — Nuove ricerche sulla « vaccinazione » delle piante. c. s. v. X, p. 19 (estratto), 1937.
(7) — Esperienze e critica dei fenomeni detti di vaccinazione nelle piante superiori. Nuovo Giorn. Bot. Ital. n. s. XLIV, 4, p. 2 (estratto) 1937.
(8) Beauverie J. — Le « Botrytis cinerea » et la maladie de la toile. C. R. Acad. Sc. Paris. v. 128, p. 846-849, 1251-1253, 1899.
(9) — Essais d'immunitation des végétaux contre les maladies cryptogamiques. C. R. Acad. Sc. Paris, v. 133, p. 107-110, 1901.
(10) — et Guilliermond A. — Etude sur la structure du Botrytis cinerea. Centralb. f. Bak. ecc. II Abt., X, p. 275-281, 311-320, fig. 14, 1903.
(11) Braun H. — Der Wurzeltöter der Kartoffel *Rhizoctonia solani* K. Monographien zum Pflanzenschutz, n. 5, Berlino, 1930.
(12) Bubentzoff S. T. — Wulching in the control of diseases of truck crops. Pl. Prot. Leningrado 4, p. 107-110, 1935.
(13) Buddin W. e Wakefield E. M. — Studies on *Rh. Crocorum* and *Helicobasidium purpureum*. Trans. Brit. Myc. Soc. XII, p. 116-140, 1927.
(14) Burchard G. — Beiträge zur Kenntnis parasitischer Pilze. Phytop. Zeitsch. 1, p. 277-293, fig. 12, 1929.
(15) Carbone D. — L'immunità vaccinale nelle piante. Natura, XXV, p. 111-134, fig. 14, 1934.
(16) — Sur la nature de la « barriére » dans le haricot vacciné et infecté de « Toile ». Boll. Soc. Int. Microbiologia VI, p. 301-303, 1934.
(17) — e Alexandri A. V. — Nuove ricerche sull'immunità vaccinale delle piante. Rivista Biologia. Perugia, XX, fas. 1, p. 20, (estratto) 1936.
(18) — Sull'intossicazione delle piante col vaccino. Académie Roumaine Bull. Sect. Scient. XVII, n. 9-10, p. 2 (estratto) 193 .?
(19) — Qualche esperimento sulla vaccinazione delle piante. c. s. p. 5, fig. 5, 193?
(20) — e Arata M. — Sul meccanismo dell'immunità acquisita nelle piante. Atti V Congr. Naz. Microb. 1934 (p. 10 estratto).
(21) — Sur le meccanisme de l'immunitè acqnise chez les plantes. Boll. Sez. Ital. Soc. Microb. VI, p. 219-226, 1934.
(22) — e Arnaudi C. — L'immunità nelle piante. Monografia dell'Istituto Sierot. Milanese. Milano, 1930.
(23) — e Jarach M. — Sur le mecanisme de l'immunitè acquise active chez les plantes. Boll. Sez. Ital. Soc. Int. Microbiologia 111, p. 54-56, 1931.
(24) — e Kaljaev A. — Ricerche sulla vaccinazione delle piante. Phytoph. Zeitschr. V, p. 91-97, fig. 13, 1932.

(25) Cappelletti C. — Sull'azione dei prodotti del ricambio di miceti micorizogeni sulle piante ospiti. Ricerche fisiologiche e morfologiche. Annali di Botan. XIX, pag. 62 (estratto), tav. 3, 1930.

(26) Castellani E. — Ricerche preliminari sulla biologia di alcune Rizottonie. Ann. Ist. Sup. Agrario e Forestale. Firenze. s. 2°, V, p. 32 (estratto) tav. 3, 1934.

(27) — Ricerche morfologiche sistematiche su alcune Rizottonie c. s. p. 15 (estratto) fig. 7, tav. 6, 1934.

(28) Ciferri R. e Baldacci E. — Ricerche ed esperienze sulle malattie del riso. I. Prove di patogenicità di funghi diversi per le piantine di riso. Atti Ist. Bot. Pavia, s. IV, V, VII, p. 161-184, fig. 8, 1936.

(29) Constantin J. — Les Rhyzoctonies. Ann. Sci. Nat. Bot. VI, p. I-XV, 1924.

(30) De Candolle A. P. — Mémoire sur les rhizoctonies, nouveau genre de champignos ecc. Mém du Mus d'Hist. Nat. 2, p. 209-316, tav. 8, 1815.

(31) Delacroix e Maublanc. — Maladies des plantes cultivées. Parigi 1926.

(32) Duggar B. M. — Rhizoctonia Crocorum (Pers) DC and R. Solani K. (Corticium vagum B. e C.) with notes on other species. Ann. of. Missouri Bot. Garden. 2, p. 403-458, fig. 9, 1915.

(33) — Rhizoctonia Solani in relation to the « Mopopilz » and the « Vermehrungspilz ». c. s. 3, p. 1-10, 1916.

(34) Edwards H. I. e Newton W. — The physiological of Rhizoctonia Solani Kühn. V. The activity of certain enzymes of. Rh. Solani. Sc. Agr. XVII, 5, p. 544-549, 1937.

(35) Elmer O. H. — Pathogenic and cultural comparisons of strains of Rhizoctonia Solani. Abs. in Phytopath. XXII, 1, p. 8-9, 1932.

(36) Estiveyeff — Contribution to the study of « root rot » of Cotton under Central Asiatic conditions. Scient. Res. Inst. for Cotton Growing and for the Cotton Industry. Scient. Ser. Tashkent 1930.

(37) Ferraris T. — Trattato di patologia e Terapia Vegetale. Parassiti vegetali ecc. v. 1, 1938, Milano.

(38) Flachs — Krankheiten and Schädlinge an Kakteen· Nachr. Schädl. Bekämpf. Leverkusen. X, 4, p. 184-193, 1935.

(39) Hartley C. — Damping-off in forest nurseries. U. S. Dept. Agr. Bull. 934, 1921.

(40) Güssow H. T. — Beitrag zur Kenntnis des Kartoffelgrindes, Corticium vaguum B. et C. var. Solani Burt. Zeitschr. f. Planzenkr. XVI, p. 135-137, 1906.

(41) Gutzevitch S. A. — (con titolo in russo) in Trav. Soc. Nat. St. Petersb. (Leningr.) LXIII, p. 69. 1934. recensito in Rev. App. Myc. XIV, 5, p. 278, 1935.

(42) Jankowska K. — Spostrzezeniâ nad grzybem szklarniowym (M. Aderholdi Rhul.) Mem. Ist. Nat. Polonais d'Econ. Rur. Pulawy. XI, 1, p. 61, 69, 1930 recensito in Rev. App. Myc. X, 6, 1931.

(43) Jarach H. — Sul meccanismo dell'immunità acquisita attiva nelle piante. Phytopath. Zeitschr. IV, 3, p. 315-327, 1935.

(44) Hynes — « Purple patch » of Wheat and Oats. A. disease caused by the fungus Rh. Solani. Agric. Gaz. New. South. Wales XLIV, 12, p. 879-883, 1933.

(45) — Studies on Rhizoctonia root-rot of Wheat and Oats. Sci. Bull. Dept. Agric. N. S. Wales. 58, p. 42, 1937.

(46) Kaljaev A., Kranwtschenko A. e Smirnowa N. — Zum Problem der erworbene Immunität bei Planzen. Vakzination der Bohnen gegen den Pilz Toile. Centralb. f. Bak. ecc. 11 abt. XCII, p. 205-220, 1935.

(47) Kühn J. — Krankheiten der Kulturgewächse, ihre Ursachen und ihre verhütung. p. 222-249, 1858.

(48) Kyropoulos P. — Einige Untersuchungen über Umfallen der Keimpflanzen, besonders der Kohlarten· Centralb. f. Bak. II abt. 45, p. 244-256, tav. 3, 1916.

(49) Landgraf T. — Kohlensäurebegasung als Bekämpfungsmittel von Trubeusvhimmel und vermehrungspilz. Gartenwelt, XXX, 23, p. 359-360, 1926.

(50) Laubert — Recensione dei lavori di Rolfs e Güssow in Centralb. f. Bakt. 102, p. 525-527, 1906.

(51) Maas J. — Germison gegen den Vermehrunhspilz. Gartenwelt. XXXI, 12, p. 179, 1927.

(52) Mangin L. — Sur la toile, affection parasitaire de certains vegetaux. Bul. Soc. Biol. X, p. 209-210, 1894.

(53) — Sur le parasitisme d'une éspece de Botrytis. C. R. Acad. Paris. 118, p. 882-884, 1894.

(54) Matsumoto T. — Further studies on physiology of Rhizoctonia Solani K. Bull. Imp. Coll. Agric. and Forestry. Morioka. Giappone. V, p. 1-53 fig. 8, 1923.

(55) — Suplementary note on the enzime activity of. Rh. Solani K. c s. VIII, p. 1-13, 1924.

(56) Monteith J. e Dehl A. S. — A comparison of some strains of Rhizoctonia Solani in culture. Journ. Agric. Res. XXXVI, 10 p. 897-903, 1928.

(57) Morotchkowski S. F. — (titolo in russo) Sci. Notes Sugar Indus. Kieff. Agric. Bull. 2, p. 93-101, 1936 recensito in Rev. App. Myc. XVI, p. 293, 1937.

(58) Müller K. O.· — Ueber die Beziehungen von Moniliopsis Aderholdi zu Rhizoctonia Solani. Arb. Biol. Reichsanst. f. Land und Fortwirtsch. XI, 4, p. 321-325, fig. 3, 1923.

(59) — Ueber die Beziehungen zwischen Rhizoctonia Solani K und Hypochnus Solani Prill. et Del. c. s. p. 326-330, 1923.

(60) — Untersuchungen zur Entwckilungsgeschichte und Biologie von Hypochnus solani P., u D. (Rhizoctonia solani K.) c. s. XIII, 3, 197-262, tav. 5, 1924.

(61) Nestertschuk G. I. — (titolo in russo) Morbi Plantarum. Leningrado. XIX, p. 159-182, 1930.

(62) Newton W. — The phisiology of Rhizoctonia. (I e II) Scientif. Agricolt. XII, 3, p. 178-182, 1931.

(63) — e Mayers N. — The physiol. ecc. III. The susceptibility of different plants as determined by seedling infection. Scientif. Agric. XV, 6, p. 393-398, fig. 2, 1935.

(64) — IV. The effect of a toxic substance produced by Rhizoctonia solani K. when grown in liquid culture on the growth of wheat, carrots and turnips. c. s. p. 399-401, 1935.

(65) Nobecourt P. — Contribution a l'étude de l'immunité chez les vegetaux. Tunisi. 1928.

(66) — Sur le mécanisme de l'immunisation des vegetaux. Ass. Franc. p. Avanc. des Sciences. Chambéry, p. 292-294, 1933.

(67) Pape H. — Der Vermehrungspilz on Cyclamen-Sämlingen. Gartenwelt XXX, 16, p. 248-250, 1926.
(68) — Eine Vermehrungs-krankheit bei Begonia Blattsteklingen. Gartenwelt. XXXI, 3, p. 35-36, 1927.
(69) — Krankheiten und Schädlinge on Pelargonien und ihre Bekämpfung. Blumen und Pflanzenbau. XLVI, 2, p. 21-23, 1931.
(70) Pasinetti L. — La patogenicità della « toile » in rapporto all'azione dei raggi X. Riv. Pat. Vegetale. Palermo. XXII, p. 201 215, 1932.
(71) — Le variazioni micro-termo-elettriche in alcuni Eumiceti patogeni per le piante irradiate con raggi X. c. s. p. 219-263.
(72) Peyronel B. — Prime ricerche sulle micorize endotrofiche e suila micoflora radicicola normale delle fanerogame. Rivista di Biologia V, 4, e VI, I, p. 61 (estratto) fig. 25.
(73) — Alcune osservazioni sulla biologia della Rizottonia della patata. Boll. mensile inf. e not. Osserv. Fitop. Roma. V, n. 1-3, 1924.
(74) — La sterilizzazione del terreno e la flora radicicola normale del frumento Boll. Sta. Patologia Veg. Roma VI, N. S. 4. p. 13 (estratto),
(75) Prillieux E. e Delacroix G. — La maladie de la Toile, produite par la *Botrytis cinerea*. C. R. Acad. Sci. 118, p. 744-746, 1894.
(76) — Hypochnus Solani n. sp. Bull. Myc. de France, VII, p. 220-221, 1891.
(77) Rant A. — De Mopoziekte. Teysmannia, XXVI, p. 54-57, 1915 (citato da Duggar, vedi questo A.).
(78) Rath E. — Zur Bekämpfung des Vermehrungspilzes. Gartenwelt, XXXII, 10, p. 130, 1928.
(79) Richards B. L. — Further studies on the pathogenicity of Corticium vagum on the potato as affected by soil temperature. Journ Agric. Res. XXIII, 9, p. 761-770, 1923.
(80) — Soil temperature as e factor affecting the pathogenithy of Corticium vagum on the pea and the bean. Journ. Agric. Res. XXV, 11, p. 431-433, 1923.
(81) Richter — Der Einfluss Rhizoctonia Solani auf den Keimmungsverlauf der Kartoffeln. Nachrichtenbl. deutsch. Pflanzenschutzdieust. 3, p. 19-20, 1922.
(82) Richter H. — Fusskrankeit und Wurzelfäule der Lupine (Erreger: Rhizoctonia Solani K.) Centralb. f. Bak. II Abt. XCIV, 5-8, p. 127-133, 1936.
(83) Rolfs F. M. — Corticium vagum B. and C. var. Solani Burt. Science, n. s. 18, p. 729, 1903.
(84) Ruhland W. — Beitrage zur Kenntnis des sog. « Vermehrungsoilzes » Arb. K. Biolog. Anstalt. f. Land und Forstwirtsch. VI; p. 71-76; fig. 3; 1908.
(85) Schaffnit E. e Lüdtke M. — Ueber die Bildung von Toxinen durch verschiedene Pflanzenparasiten. Berichte Deutsch. Bot. Gesells. L. 9, p. 444-463, 1932.
(86) — e Meyer-Hermann K. — Ueber den Einfluss der Bedenreaktion auf die Lebenweise von Pilzparasiten uud das Verhalten ihrer Wirtspflanzen. Phytoph. Zeitschrift. II, . 99-166, 1930.
(87) Shaw F. J. F. — The morphology and parasitism of Rhizoctonia. Memoirs Dep. Agric. India. Pusa. Agric. Res. Ist. Bot. series. IV, 6, p. 115-153, tav. 10, 1912.
(88) — The genus Rhizoctonia in India. c. s. Bot. series. VII, 4, p. 177-194, tav. 7, 1913.

(89) Schimdt E. — Winke zur Bekämpfung des Vermehrungspilzes. Gartenwelt, XXXII, 6, p. 76, 1928.
(90) Schimdt V. V. — (titolo in russo) dal rapporto dell'anno 1931 della Stazione SANIS dell'Istituto per le nuove Fibre. Vasknnl recensito in Rev. App. Myc. XIII, p. 374, 1934.
(91) Schultz H. — Vergleichende Untersuchungen zur Oekologie, Morphologie und Systematik des « Vermehrunspilzes ». Arb. Biolog. Reichstanstalt f. Land und Forstwitsch. XXII, 1, p. 41 (estratto) fig. 22, 1937.
(92) Shepherd — Ann. Rept. Mauritius Dept. of Agric., for 1932. Botanical Division. p. 32-38, 1933.
(93) Sorauer P. — Ueber den « Vermehrungsschimmel » Zeitschr. Pflanzenkr. 6, p. 314-315, 1896.
(94) Siemaszko W. — Plesn lisciowa, Monilia foliicola Woronichin, w. swietle spostrzezen i badan biologicznych. Acta Soc. Bot. Poloniae II, 2, p. 18 (estratto) tav. I, 1924.
(95) Tchonmakova — (titolo in russo). Morbi plantarum XIV, 2-3, p. 105-108, 1926.
(96) Therry J. e Thierry. — Nouvelles especés de Mucorinées du genre Mortierella. Rev. Myc. 4, 160-1882.
(97) Thomas K. S. Investigation of Rhizoctonia. Electr. « De Industrie » I. van Druten. Utrecht. pp. 98, 1925.
(98) Tulasne L. e C. — Fungi Hypogaei pp. 188-195, 1862.
(99) Van Hall C. J. J. — Ziekten en Plagen der culturgawassen in Nederlandsch Indie in 1920. Med van het Inst. voor Planteryiekten, p. 46-50, 1921.
(100) Van Poeteren N. — Verlag over de werkzaamheden van den Plantenziektenkundigen Dienst in het jaar 1926. Verlag en Meded. Plantenziektenkundigen Dienst te Wagenigen. 51, p. 100, 1928.
(101) Wellensiek S. I. — De Identiteit van Kweekkasschimmel met Aardappel Rhizoctonia. Tijdschr voor Vergelijkende Geneesk enz. X, 2-3, p. 5, 1924. (recensito in Rev. App. Myc. III, 9, 1924).
(102) — Infektproeven met Rhizoctonia en Moniliopsis op Tomaat en Aardappel. Tijdschr over Plantenjiekten. XXXI; II; p. 236-250; tav. 2; 1925.
(103) Zaprometoff N. G. — (titolo in russo) Furtherance of New Fibre. Mosca 8-9, p. 60-65, 1931. citato in Rev. App. Myc. XI, p. 182, 1932.

Finito di stampare il 20 luglio 1938, XVI, in Pavia.

R. UNIVERSITÀ DI PAVIA
ISTITUTO BOTANICO « GIOVANNI BRIOSI »
E
LABORATORIO CRITTOGAMICO ITALIANO
DIRETTI
dal Prof. GINO POLLACCI

REVISIONE SISTEMATICA DEL GENERE *MALBRANCHEA* SACC.

Memoria di E. BALDACCI, R. CIFERRI e E. VACCARI

INDICE

Introduzione e scopo del lavoro . . . . . *pag.* 75
Notizie storiche delle specie conosciute . . . . . » 76
Parte sperimentale:
Origine e provenienza dei ceppi . . . . . » 77
Caratteri morfologici . . . . . » 78
Osservazioni cariologiche . . . . . » 83
Caratteri colturali . . . . . » 83
Caratteri biochimici . . . . . » 87
Caratteri patogenetici . . . . . » 88
La posizione sistematica del genere *Malbranchea* . . . . . » 89
Le analogie con gli Helicosporei . . . . . » 91
Le analogie con il genere *Actinomyces* . . . . . » 93
Conclusione . . . . . » 98
Nomenclatura, sinonimia e diagnosi . . . . . » 99
Riassunto . . . . . » 101
Summarium . . . . . » 102
Summary . . . . . » 102
Bibliografia . . . . . » 102

Introduzione e scopo del lavoro.

La presente revisione ci è stata suggerita dalla presenza nella collezione del Laboratorio Crittogamico di Pavia diretto dal prof. G. POLLACCI, di tre stipiti di *Malbranchea* isolati dall'uomo (come verrà indicato in seguito) e dalla incertezza della posizione sistematica del genere, di cui ha dato esempio il recente trattato di DODGE (6), per il quale detto genere cade in sinonimia con *Actinomyces*. Egli

non ha tuttavia tenuto in considerazione che una sola delle specie finora descritte, e cioè la *Malbranchea Bolognesii-Chiurcoi* Vuill., Poll. et Nann.

Lo studio morfologico e colturale dei ceppi finora isolati è stato da noi affrontato oltre che nell'intento di precisare — come si è detto — la posizione sistematica del genere, con lo scopo di confrontare direttamente e comparativamente fra loro i ceppi e di stabilirne i raffronti e il rango tassonomico. Le ricerche che uno di noi [Baldacci (1)] sta compiendo con abbondante materiale del genere *Actinomyces* ci permisero un diretto confronto e una precisazione in merito alla opinione espressa da Dodge.

Notizie storiche delle specie conosciute del genere *Malbranchea*

Il genere *Malbranchea* fu fondato nel 1882 da Saccardo (29) con la seguente diagnosi:

Malbranchea Sacc. (Etym. in honorem praeclari lichenologi et mycologi A. Malbranche, rothomagensis).

Hyphae repentes, intricatae, continuae, hyalinae vel laete coloratae, hinc inde in ramulos arcuatos abeuntes; ramuli seriatim plurinucleati, dein ex apice (more *Sporoschismatis*) conidia cuboidea vel teretiuscula, continua, hyalina vel laete colorata. Genus *Oosporis* quibusdam et *Glycophylae* subaffine, sed ramulis arcuatis, conidiis initio endogenis, etc. optime distinctum.

Specie unica (e tipo del genere) fu la:

M. pulchella Sacc. et Penz.. Effusa, densiuscula, subpannosa, sulfurea; hyphis sterilibus varie ramulosis, repentibus, angustissimis, continuis, 0,5-0,7 μ cr.; ramulis fertilibus in semicirculum curvis, 20-25 $\times$ 2 μ, plurinucleatis; conidiis oblongo-cylindraceis utrinque subtruncatis, 3 $\times$ 2,5 μ, e flavido hyalinis, ex apice ramulorum continuo exilientibus. Hab. in charta crassiore (« cartone ») humida prope Rouen Galliae (Malbr.)

Tale specie non sembra essere stata ulteriormente segnalata sino al 1908, anno in cui Saccardo (31) la identifica in un esemplare su corda putrescente nell'Orto Botanico di Padova.

Solo nel 1925 si torna a parlare del genere con una seconda specie isolata da Bolognesi e Chiurco in un caso di ulcerazione fistolosa del torace (2) e descritta da Pollacci e Nannizzi (24) con la seguente diagnosi:

M. Bolognesii-Chiurcoi Vuill., Poll. et Nann..

Caespitulis late effusis, velutino-byssineis, densiusculis, albis, dein carneolis, arcte substrato adnatis (in culturis agari glucosati);

hyphis sterilibus repentibus, ramoso intricatis, interdum anastomosatis, septulatis, hinc inde minute granulosis, hyalinis, 0,7-1,5 μ. diam.; hyphis fertilibus subdecumbentibus, botryoso-paniculatis, arcuatis vel spiralibus; thallosporis internis 1, 2 vel plures, ovatis aut cylindraceis, rectis, quandoque inaequilateralibus, 2,5-5,2 μ, hyalinis dein roseis. Plasma hypharum senectarum entosporas cylindraceas catenulatas mox secedente gignente.

Una terza specie fu descritta nel 1933 da Kambayashi (15) che la isolò da una micosi a tipo tricofitico del cuoio capelluto e di cui dette una descrizione in lingua tedesca, che qui riassumiamo:

Colture estese, compatte (in agar glucosato); ife sterili striscianti, ramificate, intrecciate, settate, qua e là granulose, jaline, 2-3 μ diam. Ramuli incurvati a semicerchio. Nelle ife invecchiate il plasma è assai granuloso, contratto, indi da questi tratti si formano i conidi. Conidi lungamente cilindrici, troncati all'estremità, larghi 2,5-4 μ, lunghi 3-5,5 μ, jalini, catenulati alla cima dei rami fertili. Hab.: nelle squame della pelle di un uomo affetto da dermatite a tipo tricofitico a Nanshon, Cina.

Nel 1937 Rivelloni (27) inviò al Laboratorio Crittogamico un ceppo isolato da una dermatosi a tipo eritemato-pustuloso del labbro superiore di uomo, che veniva identificato (23) come *M. Bolognesii-Chiurcoi*.

Nessuno degli AA. citati, pur illustrando abbondantemente i singoli reperti, entrava tuttavia in merito alle specie precedenti nè discuteva la posizione del genere.

Parte sperimentale.

Origine e provenienza dei ceppi.

Elenchiamo le specie ed i ceppi oggetto di studio, distinguendoli con un numero d'ordine che sarà richiamato nelle descrizioni a seguito:

Ceppo 1: *M. pulchella* Sacc. et Penz., gentilmente inviataci secondo nostra richiesta dal Centraalbureau voor Schimmelcultures di Baarn, ed isolato da Buisman (*).

Ceppo 2: *M. Bolognesii-Chiurcoi* Vuill., Poll. et Nann., isolato da Bolognesi e Chiurco (2) e conservato presso la Micoteca del R. Laboratorio Crittogamico Italiano di Pavia.

(*) Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn; List of Cultures 1937.

Ceppo 3: *M. Kambayashii* Kamb., isolato da Kambayashi (15), gentilmente concesso dallo stesso e conservato presso la Micoteca del R. Laboratorio Crittogamico Italiano di Pavia.

Ceppo 4: *M. Bolognesii-Chiurcoi*, ceppo Rivelloni, inviato in esame da Rivelloni (23), determinato e conservato presso la Micoteca del R. Laboratorio Crittogamico Italiano di Pavia.

Caratteri morfologici.

Le caratteristiche morfologiche furono ricercate con vari metodi. Le colture in goccia pendente con acqua pepto-glucosata diedero ben scarsi risultati; il micelio sviluppò assai poco e la formazione dei conidi fu alquanto incerta.

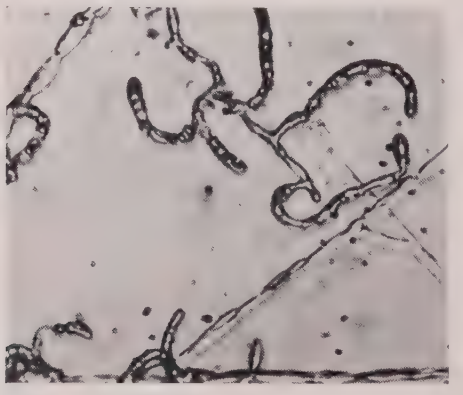


Fig. 1 — Conidiofori di *Malbranchea* (Ceppo 4) (× 820 volte).

Un risultato analogo, o di poco migliore, si ottenne col metodo di Unna, sia che fosse adoperata l'acqua pepto-glucosata o un liquido minerale a base di nitrati e saccarosio, poichè la crescita dei filamenti riproduttori è lenta e scarsa nei terreni liquidi. I preparati a fresco, anche ottenuti da vecchie colture ben fruttificate, mal si prestano all'osservazione microscopica perchè i conidi si rompono facilmente, mettendo in libertà le singole spore.

Ottimi risultati invece si ottennero facendo crescere i ceppi in terreni solidi nei quali era precedentemente infisso un vetrino porta-oggetti. Dopo una quindicina di giorni si forma una ricca vegetazione aderente al vetro, che si presta a una buona osservazione ed è ricca di produzioni sporifere.

Valendosi di questo metodo furono fatte le seguenti osservazioni sulla morfologia dei ceppi.

In colture ben sviluppate si osserva un micelio densamente ramificato, ialino, con setti numerosi e ramificazioni abbondanti e complesse, di solito alterne o unilaterali, formanti una rete che si spande sulla superficie libera. Il calibro del micelio è leggermente uniforme, di 2-2,5 μ circa; ad eccezione della parte più vecchia, si possono osservare brevi tratti di ife miceliche strettamente addossate simulanti un micelio di calibro superiore e perfino anastomosate. Senza alcun ordine, i conidiofori si osservano sulle ife miceliche, a preferenza sulle più vecchie o di mediana età, sotto forma di un breve segmento non distinguibile dal micelio sterile (fig. 1).

Non abbiamo avuto modo di osservare particolarmente la genesi dei conidiofori; dalle nostre osservazioni ci sembra che essa

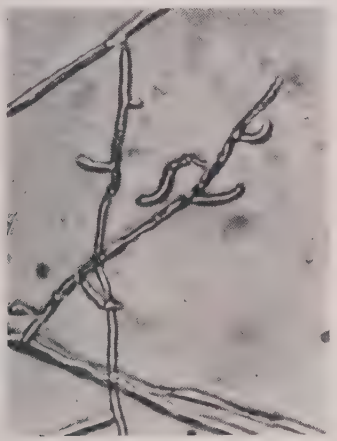


Fig. 2 — Formazione dei conidiofori (× 820 volte).

avvenga tuttavia in questo modo: un ramuscolo laterale si allunga, raramente rimanendo eretto (fig. 2), di solito assumendo un aspetto sinuoso o variamente ricurvo (fig. 3), uncinato, a pastorale (fig. 4), sino ad apparentemente anulare o subelicoidale (fig. 5); talvolta forma una breve spirale (fig. 6). E' questa la fase di formazione del " proconidio „. Ad un certo punto s'inizia la settazione dell'organo riproduttivo, che sembra poter avvenire indifferentemente in direzione basifuga o basipeta. Comunque la settazione si arresta a breve distanza dall'inserzione del giovane conidio sull'ifa sterile, o vi s'inizia a breve distanza. L'inserzione è generalmente ad angolo retto (fig. 1). In un caso o nell'altro rimane un breve

frammento continuo che si interpreta come conidioforo, dello stesso calibro delle ife sterili o sino a 3 μ di diametro. I raggi di curvatura, il numero o la frazione delle spire ed il senso della curva-

Fig. 3 — Conidiofori ricurvi (× 820 volte).

tura appaiono essere elementi variabili in uno stesso campo microscopico di uno stesso preparato, benchè vi siano delle tendenze ad aspetti più frequenti per ognuno dei ceppi esaminati. Dopo un

Fig. 4 — Conidiofori a pastorale (× 820 volte).

tempo variabile dalla settazione s' inizia il processo di schizogenesi dei singoli conidi. Tale liberazione avviene per frammentazione successiva del proconidio, a cominciare probabilmente dall' apice e

proseguendo in direzione basipeta sino a giungere di regola alla inserzione del conidioforo, che rimane monco (fig. 7).

In generale, immediatamente prima che s'inizi il processo di disarticolazione del proconidio, è bene evidente un esosporio ed un endosporio, propabilmente per uno scollamento dei due elementi

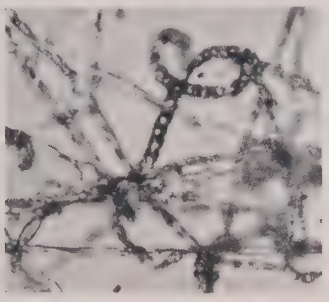


Fig. 5 — Conidiofori a elica (Ceppo 4) (× 820 volte).

citologici. Tale relativa indipendenza è evidente negli elementi disarticolati, in quanto la sezione nitida e ben delimitata per l'endosporio nei singoli conidi, in corrispondenza dei setti, è invece irregolare per l'esosporio, quasi costituisse un manicotto inguainante il conidio. Queste caratteristiche sono state illustrate anche

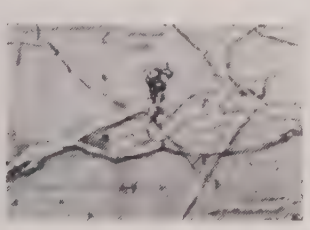


Fig. 6 — Conidiofori a spirale (Ceppo 2) (× 820 volte).

da Kambayashi (15) (fig. 2-18; 20-45). La morfologia del fungo, relativamente semplice, non comporta altri organi di moltiplicazione o vegetativi, eccezion fatta da alcuni organi globulari o, più spesso, piriformi o sub-elongati, costantemente acrogeni ed inseriti all'apice di ife lunghette, che rappresentano non organi di moltiplicazioni ausiliari ma si interpretano come depositi di materiali nutritivi di riserva (fig. 8).

Le differenze esistenti tra i ceppi sono d'ordine biometrico più che morfologico; nel complesso però il ceppo 4 (Rivelloni) ha

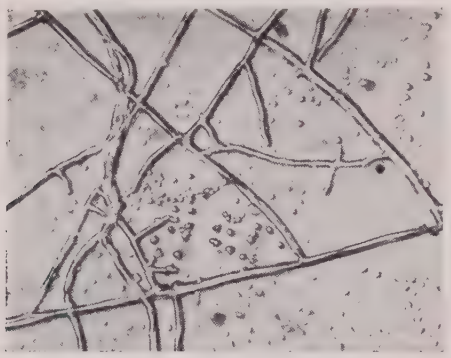


Fig. 7 — Conidii (Ceppo 1) (× 820 volte).

conidi maggiori e meno strettamente incurvati. Questo stesso ceppo fruttifica più precocemente degli altri, presentando degli ammassi

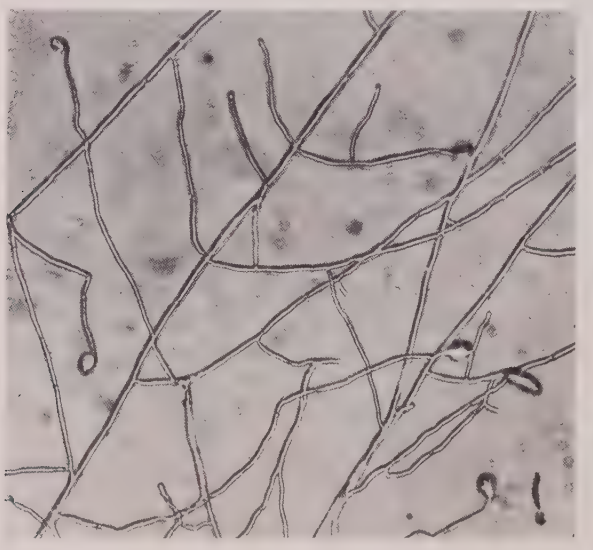


Fig. 8 — Organi acrogeni (× 820 volte).

più frequenti e più densi (fig. 13) e manifestando in generale un maggior vigore di sviluppo.

I dati biometrici da noi osservati sono i seguenti:

Ceppo 1: conidi inseriti a mezzo di un breve conidioforo sulle ife, scarsi, che si disarticolano assai facilmente; sono arcuati ad uncino, con spirale poco avvolta, con più spore di 2,5 - 3 μ di lunghezza per 2 μ di larghezza (fig. 7).

Ceppo 2: conidiofori arcuati ad elica, talora con parecchie spire a giro stretto; spore lunghe da 2,5 a 4,5 μ, larghe 2,5 μ (fig. 3 e 6).

Ceppo 3: conidiofori arcuati; spore lunghe da 3 a 5,5 μ, larghe da 2,5 a 3,5 μ (fig. 2 e 4).

Ceppo 4: conidiofori grandissimi, arcuati a giro ampio, solo raramente avvolti ad anello. Spore lunghe da 6,5 a 7,5 μ, larghe da 3 a 4 μ (fig. 1, e 5 e 13).

Osservazioni cariologiche.

In colture su porta-oggetti, quali sono state descritte in precedenza, fissati con vapori di formalina per sei ore e colorati con ematossilina ferrica, ci è stato possibile osservare la presenza di un nucleo per ognuna delle cellule degli apici miceliari; la presenza di nuclei nelle cellule d'ife mature o vecchie è discontinua. Anche il proconidio è plurinucleato; in generale si osserva un nucleo per ognuna delle cellette intersettali, ma alcune, e generalmente quelle della base o della parte mediana, possono anche essere anucleate. Tali nuclei occupano di solito la parte centrale delle cellette, che è quella generalmente rigonfiata rispetto ai setti, ove il proconidio di regola si strangola, addossandosi ad una delle pareti laterali.

Caratteri colturali.

Colonia gigante.

Lo studio comparativo delle colonie fu effettuato in scatola Petri, su terreno Pollacci; le colture furono tenute per 20 giorni in termostato alla temperatura ambiente (20° C.).

Ceppo 1: Colonia ovale di 14 per 12 mm., color bianco gesso, fittamente cotonosa, dolcemente ondulata al centro, a contorno netto (fig. 9).

Ceppo 2: Colonia irregolarmente ovale di 18 per 14 mm. alta 3 mm., color rosa-albicocca pallido, più scuro al centro, fittamente cotonosa, a margine netto e rilevata al centro (fig. 10).

Ceppo 3: Colonia ovale di 17 per 14 mm., alta 1 mm., aderente al substrato agli orli, con ondulazione rilevata ad anello nell'interno; al centro è leggermente ondulata, di color bianco gessoso, fittamente cotonosa e a margini netti. Come aspetto ricorda da vicino il ceppo 1 (fig. 11).

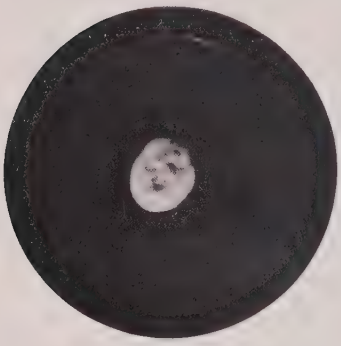


Fig. 9 — Ceppo 1

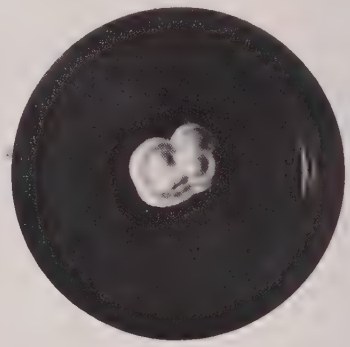


Fig. 10 — Ceppo 2

Ceppo 4: Colonia assai irregolare, di 20 mm. circa di diametro; alta 5 mm., policroma. L'aspetto generale è pulverulento, particolarmente al centro. La colonia verso la periferia è bianco-rosata, al centro rosa-albicocca, con sfumature gialle e grigio-perla lievissime; è lassamente cotonosa con orli sfrangiati (fig. 12).

Fig. 11 — Ceppo 3

Fig. 12 — Ceppo 4

Queste colorazioni si osservano agevolmente in colture bene sviluppate ma non vecchie, ove naturalmente il colore tende a livellarsi.

Colture su terreno Pollacci (pH = 7; T = 25° C.).

Tutti i ceppi furono coltivati contemporaneamente ed esaminati con letture a più riprese, che vengono indicate singolarmente per ciascun ceppo.

Ceppo 1. — Sviluppo tra il 2° ed il 3° giorno di un'unica colonia rotonda, rilevata, quasi emisferica, color crema pallido, di 1 mm. di diametro. In seguito (6° giorno), il diametro della colonia è aumentato di circa il doppio, pur conservando forma emisferica. Appare vellutata molto fittamente, rasata. Verso il 10° giorno si formano nella colonia delle grandi pieghe, poco profonde all'inizio, ma sempre più distinte, fino ad assumere un aspetto ondulato, cerebroide, al 20° giorno. I margini della colonia sono nettissimi, nessuna pigmentazione del substrato.

Ceppo 2. — Sviluppo come il ceppo precedente; al 40° giorno la colonia è bianca, cotonosa, nel centro si pigmenta in rosa-salmone; margini frangiati. Nessuna pigmentazione sul rovescio.

Ceppo 3. — Sviluppo pure molto simile a quello dei primi due ceppi, colonia però sempre candida, quasi del tutto piana, fino al 40° giorno, poi passa ad un color rosa-salmone.

Ceppo 4. — Inizio di sviluppo al 4° giorno, colonia crema pallido di 2 mm. di diametro, vellutata, rilevata. Col tempo la colorazione passa all'avorio vecchio, giallo-brunastro; al 10° giorno colonia di 10 mm. poco rilevata, fittamente pubescente. La parte più giovane è quasi bianca. Al 45° giorno la colonia è sviluppata assai irregolarmente, con aspetto polverulento, color carta bruciata; il terreno si pigmenta in bruno, limitatamente alla parte sottostante la colonia.

Colture su terreno Sabouraud (pH = 6,5; T = 25° C.).

Vi furono coltivati tutti i ceppi.

Ceppo 1. — Sviluppo al 4° giorno di piccola colonia bianca (1 mm.), vellutata fittamente, quasi emisferica. Al 10° giorno colonia bianco crema, rilevata, con piccole ondulazioni al centro, orli netti. Al 30° giorno leggermente rosata, liscia, con margini lobati. Sviluppo 2/3 della superficie; nessuna pigmentazione del terreno.

Ceppo 2. — Sviluppo come il precedente; soltanto la colonia all'inizio è candida, al 10° giorno appare leggermente tinta in avorio pallido e passa al rosa salmone al 20°. Nessuna pigmentazione del terreno.

Ceppo 3. — Al terzo giorno colonia bianca, emisferica, di 1 mm. di diametro. Al 12° giorno è pubescente, vellutata. Dopo un mese la colonia ha un color crema pallido, con piccole goccioline nere. Non pigmenta il substrato.

Ceppo 4. — Sviluppo al 4° giorno di una colonia bianca, emisferica (1 mm.), vellutata. Al 10° giorno la colonia, di 11 × 7 mm. di diametro, si pigmenta in avorio vecchio. Dopo un mese la parte più vecchia è policroma, polverulenta, con sviluppo esteso a 2/3 della superficie. Si formano minute gocciole di grasso. Nessuna pigmentazione al substrato.

Colture su agar carota (pH = 7 ; T = 25° C.).

Ceppo 1. — Colonie bianco crema nella parte più vecchia, rilevate, vellutate. Dopo 15 giorni si formano delle lievi ondulazioni al centro; dopo un mese sviluppo ridotto (2/3), colonia con vegetazione aerea rada, bianca. Nessuna pigmentazione.

Ceppo 2. — Sviluppo al 4° giorno, colonia candida, emisferica, vellutata fittamente. Dopo 11 giorni la parte centrale, più vecchia, si pigmenta in giallo avorio. Le colonie di un mese di età si presentano cotonose, rosa salmone, con margini frangiati. Nessuna pigmentazione del substrato.

Ceppo 3. — Al 3° giorno, colonia emisferica (4 mm.), bianca, vellutata, pubescente. Al 15° giorno colonia rosa avorio, ancora bianca nella parte più giovane poco rilevata. Non pigmenta il substrato.

Ceppo 4. — Sviluppo al 4° giorno di colonie bianche, lanose, rilevate. Al 6° giorno (6 mm.) appare una pigmentazione giallo crema, sempre più evidente nella parte più vecchia e dove l'agar è più sottile. Dopo 45 giorni sviluppo scarso (2 cm.), colonia rotonda, pieghettata agli orli, rosa scuro con goccioline nere. Non pigmenta il substrato.

Colture su agar fagioli (T = 25° C.).

Vi furono coltivati tutti i ceppi.

Ceppo 1. — Al 4° giorno colonia irregolarmente ovale 4 × 8 mm.), lucida agli orli, color crema, vellutata, poco rilevata. Al 18° giorno la colonia, assai poco cresciuta, presenta piccole goccioline rosso nerastre. Dopo 45 giorni vegetazione aerea bianca, abbondante, con molte gocce oleose. Micelio vegetativo raso, sottile e trasparente.

Ceppo 2. — Sviluppo come il precedente ; colonia del tutto somigliante.

Ceppo 3. — Al terzo giorno appare una colonia bianco-perlacea (5 mm.), lucida, rilevata che si fa in seguito pubescente, giallo-avorio. Al 45° giorno colonia assai rilevata, sviluppo scarso (1 cm.). Vegetazione aerea bianco cotonosa, molto rada. Micelio vegetativo lucido, color crema chiaro.

Ceppo 4. — Colonie bianche, lassamente vellutate, rilevate, piccole. Al 45° giorno sviluppo scarso (2 cm.). Vegetazione recente bianca, cotonosa; la parte più vecchia giallo sporco, polverulenta, come spruzzata sopra.

Colture su patata in *pezzi* (T = 25° C.).

Tutti i ceppi vi furono coltivati, senza ottenere differenziazioni specifiche; colonie tutte simili di aspetto, assai sviluppate, bianco crema con orlo più chiaro, rilevate al centro, fittamente vellutate, con gocce oleose sparse. Il sustrato non è modificato.

Colture su carota in *pezzi* (T = 25° C.).

Tutti i ceppi vi furono coltivati. Sviluppo assai simile per tutti e quattro, superiore a quello delle colture su patata in pezzi. Colonie cotonose, bianche, rilevate; margini netti, lobati. Dopo un mese le colonie tendono a un color crema rosato. Il sustrato non appare modificato.

Caratteri biochimici.

a) Temperatura di sviluppo.

I risultati sono esposti nella Tav. I, dalla quale risulta che le specie tutte prediligono le temperature fra 20° e 25° C., con un *optimum* termico di circa 20° C. A 37° C. lo sviluppo è nullo, ad eccezione del ceppo 4, che vi assume un mediocre sviluppo. Le letture furono eseguite su colture di 15 giorni di età.

Tavola I.

Ceppi	a 20° C.	a 28° C.	a 37° C.
1	Piccola colonia emisferica di 5 mm. di diam.	Sviluppo scarso	Sviluppo nullo
2	Molte colonie di 15 × 12 mm.	Varie colonie di 5-6 mm.	Sviluppo nullo
3	Colonia unica di 15 × 8 mm.	Colonia unica di 12 × 6 mm.	Sviluppo nullo
4	Colonia di 18 × 8 mm.	Colonia irregolare di 25 × 8 mm.	Poche piccole colonie di 5 mm. di diam.

b) Assimilazione dei composti azotati.

Le culture sono eseguite in terreno minerale così costituito:

Acqua	gr.	1000
Saccarosio	»	20
Fosfato bipotassico . .	»	1
Cloruro di calcio . . .	»	0,3
Solfato di magnesio . .	»	0,3
Cloruro sodico . . .	»	0,1
Cloruro ferrico . . .	»	0,01
Fonte azotata . . .	»	10

La fonte azotata è volta a volta costituita da nitrato di potassio, asparagina, peptone, solfato d'ammonio. Le letture dopo 15 giorni sono esposte nella Tav. II, dalla quale risulta che in presenza di asparagina, nitrati e solfato d'ammonio si ha sviluppo più rigoglioso che non in peptone.

Non si notano grandi differenze di sviluppo tra i singoli ceppi, salvo uno sviluppo leggermente inferiore dei ceppi 1 e 3.

Tavola II.

Fonte azotata	ceppo 1	ceppo 2	ceppo 3	ceppo 4
Nitrato di K . .	+	+++	++	++++
Asparagina . . .	+	+++	+++	++++
Peptone	–	++	++	+++
Solf. d'ammonio .	++	+++	++	+++

Leggenda: – sviluppo nullo, + scarso, ++ mediocre, +++ buono, ++++ ottimo.

c) Fluidificazione della gelatina.

Nessuno dei ceppi studiati fluidifica la gelatina; solo nei ceppi 3 e 4, dopo 12 giorni, si nota la formazione di una piccola sacca di gelatina fluida o semifluida.

Caratteri patogenetici.

Non sono state effettuate inoculazioni; per la *M. Bolognesii-Chiurcoi* i due AA. Bolognesi e Chiurco (2) ottengono su ratti bianchi e cavie inoculate granulomi multipli intra-addominali e

delle ulcerette della pelle, con retrocolture positive. I dati sono riportati da Vuillemin (34) e da Pollacci e Nannizzi (24). Anche Kambayashi (15) inocula il suo ceppo in cavie con risultati positivi, ma l'A. afferma trattarsi di una specie a debole patogenicità.

Se non si può negare che i ceppi suddetti, appena isolati, potessero presentare caratteri di aggressività verso gli animali da esperimento, oggi tale patogenicità dovrebbe escludersi " a priori „ dato il fatto che le specie da noi indagate non si sviluppano oltre i 30° C., e comunque non crescono affatto a 37° C., ad eccezione del ceppo 4, che è appunto quello di più recente isolamento.

Le specie e la posizione sistematica del genere *Malbranchea.*

Come si è detto precedentemente, malgrado gli studi già citati, non sembra che sino ad oggi questo genere sia stato oggetto di una analisi approfondita nei riguardi della sua posizione sistematica.

L'inventore del genere, Saccardo (1882) (29), lo pone tra le *Mucedinaceae Oosporeae* e qualche anno di poi (30) ne confermava questa sistemazione nella " *Sylloge Fungorum* „. Tra gli altri trattatisti, Costantin (1888) (5) lo pone nel 13° gruppo delle *Mucedinee* semplici, caratterizzato da spore nascenti all'interno e libere per rottura della membrana; Lindau (17) e Ferraris (9) accettano la posizione sistematica di Saccardo. Vuillemin (1931) (34) lo pone nell'ordine degli Entosporei. Per Dodge (1936) (6) il genere *Malbranchea* è trasportato (nella sola specie *M. Bolognesii-Chiurcoi*) nel genere *Actinomyces*, registrando questo genere tra i sinonimi di *Actinomyces* (*).

Circa l'analogia con il genere *Actinomyces* diremo in seguito particolarmente, ma vogliamo qui solo rilevare che con tutta probabilità il Dodge nel fare la sinonimia non ha mai osservato direttamente una coltura di *Malbranchea.* La sua affermazione che questa " mostra la morfologia caratteristica del genere *Actinomyces* „ è basata solamente sulle somiglianze dei disegni di Drechsler (7) con quelli di alcuni AA. per *Malbranchea.*

Il genere *Malbranchea* non ha destato interesse sinchè non è stato accertato vivere in stato parassitario sull'uomo.

(*) È da notare che il genere *Malbranchea* fu descritto dal solo Saccardo; il tipo, *M. pulchella*, da Saccardo e Penzig, contrariamente a quanto riporta il Dodge.

La prima segnalazione nella micopatologia umana si deve a Pollacci e Nannizzi (24), i quali pubblicarono il micete con una dettagliata analisi sui caratteri ed una bella iconografia, avendone coltivata una specie per la prima volta. Tale specie, la seconda del genere, fu studiata insieme a Vuillemin e battezzata, in omaggio agli scopritori, *M. Bolognesii-Chiurcoi* Vuill., Poll. et Nann. Il caso d'isolamento, ben conosciuto, fu pubblicato da Bolognesi e Chiurco (2) e riportato da Pollacci e Nannizzi (24, 25).

Non sembra che altri studi siano stati pubblicati su questo genere sino alla memoria di Kambayashi (15), che isolò un terzo ceppo nel Giappone, da un caso di tricofizia. Kambayashi effettuò un accurato studio colturale, morfologico e patogenetico, con illustrazioni, chiarendo anche nei particolari l'insolita modalità di moltiplicazione.

Un successivo isolamento, di Rivelloni (27), che ne illustrò le caratteristiche cliniche, fu determinato presso il Laboratorio Crittogamico di Pavia (23).

La prima questione concernente le fasi riproduttive delle specie del nostro genere riflette il fenomeno dell'endosporulazione e deve essere considerata sotto due punti di vista: l'eventuale presenza di una vera fase di endosporulazione (produzione di spore in un sifone o tubulo conidiogeno continuo, con eiezione delle spore stesse attraverso un pertugio d'uscita), o quella di una fase di pseudo-endosporulazione (fenomeno molto vario nelle sue manifestazioni, e segnalato, specialmente in questo ultimo ventennio, in non pochi generi) od infine entrambe le fasi.

Già la diagnosi di Saccardo orienta verso la presenza di sifoni endoconidiogeni (" *conidia endogena.... ex apice ramulorum continuo exilienta* "). La formazione di veri endoconidi presuppone che, avvenuta l'eiezione delle spore, rimanga il sifone svuotato, ultimo residuo della fase generativa, ma questo non si verifica; abbiamo già detto e dimostrato, d'accordo con Kambayashi, che ife conidiogene e conidi si disarticolano simultaneamente. Quindi l'interpretazione di Saccardo non è corretta, come non lo è la diagnosi di Lindau e Ferraris, allo stesso modo che imprecise appaiono le figure di Saccardo (1908) (31) e di Ferraris (9).

Al contrario, il fenomeno della separazione del proconidio in articoli potrebbe essere considerato, sotto un certo punto di vista, come una pseudo-endosporulazione, nella facile ammissione che l'individualità riproduttiva (e quindi somatica) dei conidi preesista anche allorchè formano la serie spiralata. In questo caso i conidi seriati sarebbero formati e racchiusi entro una tunica (costituente

quello che è stato chiamato l'esosporio dei conidi), dalla quale si libererebbero non per eiezione, come nei miceti sifonati o nei fialidei, ma per irregolare dissezione dell'esosporio all'incirca in corrispondenza delle giunzioni dei conidi. È appunto questo che dà la sensazione precisa dell'indipendenza del tubo conidiogeno dal suo contenuto a maturità (cioè precedendo immediatamente la disgiunzione) per le alternate strozzature e prominenze dei singoli articoli, in modo che o gli spazi intersettali o i setti risultano strozzati. Una prova ulteriore di questa dipendenza del tubulo conidiogeno dalla serie di conidi maturi è data dalle irregolarità di separazione del cosidetto esosporio contrastante con la regolarità di sezione del contenuto (cioè del conidio) bene evidente nella figure citate di Kambayashi e nella nostra fig. 5, e del resto ben osservata da noi.

Le analogie con gli Helicosporei.

Nel considerare la generazione dei conidi quale pseudo-endogena ci conforta il fatto che, tra le molte modalità con cui questa forma di moltiplicazione si manifesta, ve n'è una in un gruppo di funghi che, per un certo aspetto morfologico generale, sono vicini alla *Malbranchea*, cioè il gruppo che, ristudiato monograficamente da Linder (18), è stato delimitato negli Helicosporei. Qui questa indipendenza si manifesta per lo sfaldamento della tunica esterna del conidio (esosporio), unico ma settato e ad elica, che in questo modo si rende libero ed è atto a germinare; questo fatto è chiaramente espresso e figurato da Linder stesso.

E' possibile che per una confusione già più volte verificatasi in altri generi fungini si siano interpretate come endospore anche i tratti di micelio a plasma brillante alternati a tratti di micelio privi di plasma od a plasma non brillante, come starebbe a dimostrare la fig. 5 in Bolognesi e Chiurco (2), evidentemente ispirata alla fig. 3 del lavoro di Miehe (20) su *Thermoidium*.

Tale discontinuità della distribuzione del plasma nelle ife, specialmente in quelle vecchie o in condizioni di vita non favorevoli, è stata anche da noi osservata, ma è riferibile ad un fenomeno di vacuolizzazione del plasma, evidentemente senza rapporti con un fenomeno di endosporulazione. La stessa confusione si è verificata per gli *Actinomycales*.

Rimane ora quindi da analizzare il significato dei proconidi e dei conidi. Mentre negli Helicosporei tutto il conidio ad elica o spiralato costituisce una entità riproduttiva unica e ben definita, in

Malbranchea la scissione in segmenti fa sì che le forme ad elica costituiscono solo un aggregato catenulato di conidi. Quindi le analogie tra *Malbranchea* ed Helicosporei sono piuttosto superficiali e quelle con *Helicoma* ed *Helicoceras* più apparenti che reali (limitate alle modalità di liberazione delle spore dalla tunica del tubulo generativo di cui sopra). Di conseguenza il proconidio di *Malbranchea* non equivale al conidio degli Helicosporei.

Stando alla disgiunzione progressiva degli elementi riproduttivi in *Malbranchea*, si potrebbe pensare ad una riproduzione per

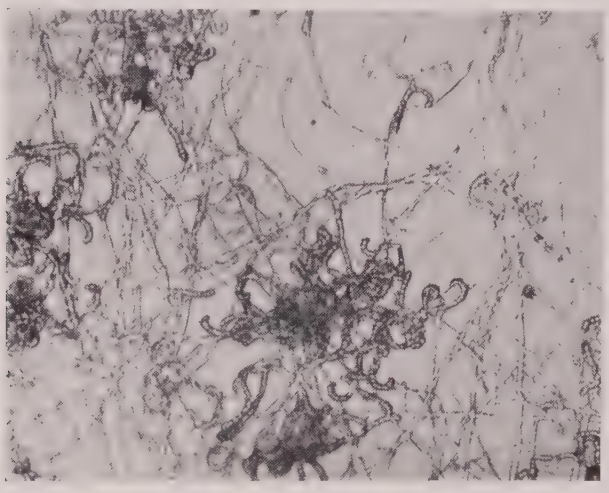


Fig. 13 — Cespugli di conidiofori (× 180 volte).

artrospore. Ma le differenze sono quasi altrettanto notevoli, perchè nei tipici Artrosporei (quali i *Geotrichum*) la disarticolazione degli elementi, pure basipeta, segue (ed in certi casi è quasi simultanea) alla settazione preliminare delle ife miceliche, e si continua indefinitamente; in *Malbranchea* la settazione è completa prima della disarticolazione, e le settazioni e le disarticolazioni sono limitate a sedi ben definite in organi completi (fig. 13).

Ciò significa che gli organi riproduttori in *Malbranchea* sono dei veri conidi, non delle tallospore come negli Artrosporei, ma che per le modalità di generazione e di messa in libertà si differenziano dalle forme di conidi oggi note. La differenza tra le artrospore ed i conidi di *Malbranchea* sono notevoli anche in rapporto all'organo da cui si generano. Mentre negli Artrosporei qualsiasi ifa micelica è atta ad essere scissa in tallospore, ed il feno-

meno (in potenza almeno) potrebbe giungere all'artrosporizzazione di tutte le ife di una colonia, in *Malbranchea* le sedi sono definite ai proconidi, che hanno un organo generativo, il conidioforo, inserito sulle ife miceliche sterili.

In conclusione, la produzione dei conidi nel genere in istudio avviene per un processo di pseudo-endosporulazione " *sui generis* „ ma diverso dalla vera endosporulazione in organi sifonati, come prima si riteneva.

Le analogie con il genere *Actinomyces*.

L'osservazione di " spore „ in senso lato nelle colture di *Actinomyces* risale allo stesso Bostroem (3), che coltivò per primo una forma di questo genere (aerobia, sporigena, filamentosa). Dopo di lui i varii scrittori rilevarono la formazione in coltura di catenelle di piccolissime spore, rotonde od ovali, facilmente rompentisi, apparentemente del tipo *Oospora*, donde il riferimento a questo genere degli attinomiceti da parte di Sauvageau e Radais (32); le catenelle terminano ad uncino o si incurvano variamente. Quasi costantemente gli autori parlano di formazione per " segmentazione „ del filamento sporifero. Secondo Rossi-Doria (28) " la guaina del filamento si andrebbe progressivamente dilatando ed assottigliando, mentre il protoplasma si segmenterebbe e si addenserebbe in spore, le quali mature uscirebbero alla fine per distruzione della guaina stessa „. Tale segmentazione sarebbe acrogena. Analoghe vedute espone contemporaneamente Gasperini (10), sostenendo che " le specie rappresentanti il gradino più elevato della scala dei batteri artrosporei molto si avvicinano alle *Streptothrix* „.

Nello stesso periodo quasi tutti gli AA. osservano che i filamenti sporigeni sono poco più grossi di quelli sterili o vegetativi (poco superiori ad 1 μ), che si osservano setti alla base quando sono prossimi a sporificare (Gasperini 1891) (11) e che questi filamenti sporiferi si ramificano abbondantemente, terminando ad uncino od incurvandosi. Nel 1894 Gasperini (12) scrive che la riproduzione avviene " per spore endogene „ in modo più vicino a quello degli Schizomiceti più elevati. Tralasciando l'opinione di altri AA. riteniamo riferire l'opinione di Lachner-Sandoval (1898) (16), che distingue due tipi di elementi riproduttivi:

1) Spore di frammentazione d'aspetto sferico o cilindrico formantisi nelle vecchie ife, per contrazione del protoplasma;

2) Spore di segmentazione sviluppantisi dalla settazione dell'apice dei filamenti aerei.

Per quanto riguarda il punto 1) diciamo che elementi di questo tipo non sono da considerarsi " spore „, ma più spesso sono stati e sono tuttora confusi con tratti di micelio a plasma brillante alternati, come si è detto sopra, a tratti di micelio privi di plasma o a plasma non brillante. Questi stessi elementi furono presi in considerazione da Vuillemin (1899) (in Bull. de la Soc. des Scienc. de Nancy) quando formò la famiglia delle Microsyphoneae, nella quale egli comprendeva le Nocardiee (Attinomiceti) a filamenti solitamente allungati e le Mycobatteriee (o Sclerotricheè) dove sono preponderanti gli elementi disarticolati coccoidi. Secondo le vedute di Vuillemin la fragmentazione dei microsifoni degli attinomiceti riattacca la famiglia delle Microsyphoneae all'ordine degli Artrosporei. Anche oggi Grigoraki (13) e Duchè (8) seguendo le vedute dell'A. francese considerano questi elementi come " microartrospore „. Noi abbiamo ragione di ritenere che questi elementi non caratterizzano la famiglia delle Actinomycetaceae (= Nocardiee Vuill. p. p.) nelle quali le uniche vere forme di sporulazione sono date dalla segmentazione dell'apice dei filamenti aerei sporigeni. Uno di noi (Baldacci) ha difatti ritenuto che quelle specie, isolate in prevalenza dall'uomo e dagli animali e considerate come specie del g. *Actinomyces* (o altri sinonimi equivalenti), non siano da considerare come tali, ma debbano essere riferite ad altro genere: *Proactinomyces* Jensen, e facenti parte della famiglia delle Mycobatteriaceae, caratterizzata appunto dalla mancanza di " spore „. La questione delle modalità di riproduzione e del loro significato nelle specie di questa famiglia è per altro assai complessa e non interessando qui direttamente rimandiamo ai lavori ricordati di uno di noi [Baldacci (1)].

Le spore di segmentazione di cui al n. 2) hanno origine da una segmentazione del filamento aereo, dall'alto verso il basso, segmentazione che non si limita ai filamenti laterali delle ife aeree, ma si estende ai grossi filamenti delle colture profonde, dando origine allo sviluppo di un sistema dendroide di catenelle di spore. Le figure fatte da Lachner-Sandoval non corrispondono esattamente alla descrizione del testo, almeno secondo Drechsler (7). Neukirch (21) identifica questa segmentazione con la formazione delle " oidiospore „ e abbandona l'uso di termini specifici. Egli discute lo sviluppo di spore nelle ife aeree per settazione del micelio, ammettendo che le spore siano formate da un risultato di successive contrazioni del protoplasma, sinchè frazioni apparentemente isodiametriche stanno separate da regolari spazi vuoti alternantisi. Schütze (33) difende l'opinione di Neukirch, ritenendo che solamente

la porzione terminale delle ife aeree o delle branche laterali si frammenti, analogamente a delle " spore „.

Seguono altre particolari interpretazioni fino allo studio preciso e documentato di Drechsler (7). Questo A. considera le spore dell'*Actinomyces* come sviluppantisi per una trasformazione di speciali ife ramificate, distinguendole dalle ife sterili del micelio aereo all'inizio del loro sviluppo. Esse sono di calibro più grosso del filamento assiale da cui hanno origine. La maturazione delle ife sporigene è associata alla formazione di caratteristiche spirali aventi particolarità che le distinguono da specie a specie. Egli distingue due tipi di formazione:

a) Un tipo eretto dendroide sul quale la sequenza di sviluppo delle ife sporigene è successiva;

b) Un tipo prostrato racemoso nel quale lo sviluppo è prevalentemente simultaneo.

La maggior parte delle specie presenta una combinazione dei due tipi. La sporogenesi è basipeta, con formazione di setti, talora appena accennati. La disposizione di questi setti è di vario tipo durante la maturazione delle spore:

a) Possono rimanere più o menò inalterati (es. *Act.* I);

b) Possono subire una fessura mediana, simulando una contrazione longitudinale delle giovani spore che vengono liberate (es. *Act.* II);

c) Possono restringersi e strozzarsi in " itsmi „ che collegano le spore mature (es. *Act.* XII).

Oltre a questi tre tipi bisogna riconoscerne altri nei quali i setti sono assenti nelle ife sporigene o non possono essere dimostrati con i metodi ordinari. Il protoplasma si mostra contratto ad intervalli regolari, formando una serie non continua di spore. Questo è il tipo osservato da Neukirch, ed ha affinità a quanto ha osservato Lachner-Sandoval e, forse, alle " microaleurie „ di Grigoraki.

Drechsler è inclinato a credere che le pareti trasversali siano presenti in tutto il genere, ma che in alcuni casi siano così sottili da essere difficilmente distinte come setti. Tale opinione è suggerita dalla larga variabilità dello " spessore „ dei setti, perchè da quelli molto grossi dell'*Act.* II si va a quelli moderati dell'*Act.* I, XII e XVI e a quelli difficilmente visibili del'*Act.* III e VIII. Un'affermazione contraria è fatta più tardi dall'Orskoev (22) il quale asserisce che il protoplasma delle ife aeree si divide in parti regolari ed eguali, senza una primaria apparizione di setti tra gli elementi individuali, che si separano per un processo di costrizione della pa-

rete della membrana. Di conseguenza questo A. modifica il concetto di spora. Noi riteniamo che la divergenza di vedute di detto A., che pure ha osservato diligentemente la morfologia degli Attinomiceti, sia originata dal metodo di osservazione. Infatti le colture su sottile strato di agar da lui utilizzate difficilmente consentono l'osservazione dei setti, sia per il loro spessore, sia per la loro facoltà ad evolversi e presentarsi come parete della " spora „ in segmentazione. Va rilevato ancora che egli ha preso in esame in più di Drechsler, molte forme appartenenti alle famiglie delle *Mycobacteriaceae.* Puntoni (26) rifiutando le designazioni di artrospora (tallospora) e di conidio, dà una nuova terminologia: actinospore, come costituenti " qualche cosa di mezzo fra le conidiospore e le artrospore. Esse si originano su filamenti aerei speciali, ma per un

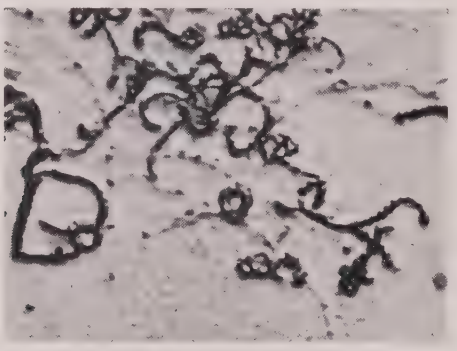


Fig. 14 — Catenelle sporigene in *A. albus* (× 1120).

processo di settazione del filamento stesso, come le artrospore „. Duché (8) segue l'opinione di Grigoraki (13), ma aumenta in modo considerevole il numero e le modalità della formazione di spore, confondendo le spore originantesi nei filamenti aerei con le formazioni alterne di vuoto e pieno nel protoplasma delle ife vecchie.

Riteniamo inutile riferire qui particolareggiatamente le opinioni di questi AA., perchè poco servirebbero alle illustrazioni in rapporto alla *Malbranchea* e perchè ci riserviamo di parlarne in un contributo in corso di pubblicazione di uno di noi (Baldacci). Le illustrazioni di *Actinomyces* (*Act. albus*) che inseriamo, mostrano alcune fasi della sporulazione in questo genere. Il confronto fra le spirali di *Malbranchea* (fig. 1, 4, 5 e 13) e quelle di *Actinomyces* (fig. 14 e 15) è assai dimostrativo. Le microfotografie sono ottenute con le colture e la tecnica descritte in altri lavori (1) ed ai quali

rimandiamo; l'ingrandimento è di 1120 volte, quello della *Malbranchea* è di 180 e 820 volte.

Nel complesso, facendo astrazione dalla confusione derivata dalle nomenclature varie degli organi moltiplicativi e della loro morfologia, sulla traccia sopratutto di Drechsler che ha studiato i fatti morfologici con maggior cura che altri, anche le analogie tra le spirali di *Actinomyces* ed i proconidi di *Malbranchea* sono illusorie. Il fenomeno della sporificazione in *Actinomyces* è molto più vicino all'artrosporulazione degli Artrosporei (tipo *Geotrichum*) che alle più complesse modalità di generazione dei conidi del proconidio di *Malbranchea*. Anche se la modalità dell'artrosporulazione è un poco più complicata di quanto si ha in *Geotrichum* (ad esempio per il frequente maggior diametro delle ife destinate a spiralarsi)

Fig. 15 — Spirali sporigene in *A. albus* (× 1120 volte).

e vi si possono distinguere varie modalità del fenomeno, tuttavia fondamentalmente la spora prodotta per schizogenesi in *Actinomyces* ha il valore di una tallospora, ed è più evoluta di quelle dei *Geotrichum*, a causa della localizzazione obbligata delle ife destinate a scindersi in elementi, della settazione completa avanti che si inizi la schizogenesi. La mancanza però di un organo generativo differenziato e basilare tipo proconidio, come si ha nel breve conidioforo della *Malbranchea*, distingue le artrospore "*sui generis*" degli *Actinomyces* dai conidi di *Malbranchea*, nella quale le ife fertili sono inoltre singole e mai riunite in ramificazioni di tipo dendroide o altro.

Se si ammette, come è logico, che tutte le tallospore (artrospore, blastospore e forme miste) sono tra le più primitive forme di moltiplicazione, se ne può indurre che i veri Artrosporei, tipi-

ficati in *Geotrichum*, hanno una modalità di moltiplicazione analoga a quella di *Actinomyces*, ma ciò non ha altro significato che la primitività di entrambi i generi, facendo beninteso astrazione dall'assenza di un nucleo ben differenziato, che separa profondamente tutti gli *Actinomycales* dai funghi più evoluti e la morfologia del micelio dell'uno da quella dell'altro gruppo.

Conclusione.

Se, salvo particolarità su cui già si è insistito, il proconidio di *Malbranchea* ha solo delle superficiali analogie con il conidio degli Helicosporei, le affinità anche solo puramente morfologiche tra *Malbranchea* ed *Actinomyces* sono altrettanto superficiali.

Maggiori analogie potrebbero riscontrarsi con le modalità riproduttive di un altro fungo dell'uomo e dell'ambiente esterno: lo *Sporendonema epizoum* (Corda) Cif. et Red., che uno di noi, in collaborazione con Redaelli (Ciferri e Redaelli 1934) (4) ebbe occasione di studiare particolareggiatamente. Già nelle osservazioni di Vuillemin (34) questo fungo, da lui denominato *Hemispora stellata*, avrebbe uno stadio quasi-conidico (o di protoconidio o di emispora), con ife indifferenziate, salvo che per una fitta settazione trasversale preludente alla disarticolazione del protoconidio in singole spore (deuteroconidio).

Nella rielaborazione del 1931 Vuillemin modifica l'interpretazione del fenomeno, ammettendo che l'organo proconidico (che ribattezza proconidio) dia origine per schizogenesi ad una catenella di artrospore.

Senza dilungarci in dettagli sull'argomento, pei quali rinviamo alla lettura del lavoro originale, è evidente che nella genesi della sequenza proconidio-conidi si ha un'analogia con *Malbranchea* e che l'opinione di Guéguen (1912) sull'endogenia dei conidi del protoconidio di *Sporendonema* non è troppo distante dalle viste di alcuni AA. sulla sporogenesi di *Malbranchea*.

Le differenze sono altrettanto evidenti, a cominciare dalla mancata differenziazione delle ife atte a sporulare in *Sporendonema* e all'assenza di avvolgimenti a spirale pure in questo genere (*).

(*) Le affinità con *Thermoidium sulfureum* Miehe invocate da Saccardo (1925) (30) sono alquanto dubbie, perché la specie è incompletamente descritta; già la netta termofilia della specie di Miehe (20) la differenzia subito dai nostri quattro ceppi. Non è improbabile che *Thermoidium*, quale genere, sia da riferire a *Malbranchea*, ma sono necessari studi comparativi con alcune forme affini a quelli, come forse lo *Sporendonema* (*s. s.*) *casei* Desm. ecc..

Ciò ci riconferma ancora nell'asserzione che le modalità di genesi delle spore di *Malbranchea*, *Actinomyces* e *Sporendonema* sono altrettante " *facies* „ di un fenomeno di moltiplicazione primitiva che nel complesso è riferibile ad una artrosporulazione.

Ma sarebbe ingiustificato voler spingere le analogie oltre questo limite e trarne conclusioni più avanzate che quelle di una comune primitività.

Quali possano essere gli eventuali rapporti tra queste modalità moltiplicative ed il fatto che questi ed altri generi ad artrosporulazione più o meno tipica possono essere parassiti dell'uomo non sapremmo dire; non si potrebbe però scartare " *a priori* „ la ammissione di una convergenza nella morfogenesi moltiplicativa indotta secondariamente dalla comunanza dell'ambiente di eventuale parassitismo.

Nomenclatura, sinonimia e diagnosi.

Circa la differenziazione dei ceppi studiati in specie, ci sembra di non possedere i caratteri sufficienti per una suddivisione. Gli aspetti colturali non variano se i ceppi sono coltivati in parallelo su gli stessi substrati; il ceppo Rivelloni ha qualche sfumatura rosa-salmone o giallastra che non manca del tutto nel ceppo di Baarn, mentre il ceppo Kambayashi è appena isabellino e dello stesso colore è il ceppo Bolognesi. Ma già le osservazioni effettuate a Baarn avevano accertato che il ceppo " *pulchella* „ da giallastro si è col volgere del tempo del tutto decolorato. L'aspetto delle colonie è molto variabile e non offre dati differenziali. D'altro canto, anche nelle nostre colture, la presenza, l'intensità e le sfumature del pigmento si sono mostrate variabili.

Anche nelle velocità di crescita vi sono lievi differenze, nel senso che i ceppi Rivelloni e Kambayashi crescono un poco più rapidamente degli altri.

Nella micromorfologia degli elementi riproduttivi si nota qualche differenza nelle dimensioni dei conidi, un poco maggiori nel ceppo Rivelloni rispetto agli altri. Ma anche per questo le dichiarazioni fatteci per iscritto dalla Sig.na Westerdijk stanno a dimostrare come il ceppo " *pulchella* „ conservato a Baarn ha modificato le dimensioni di questi organi col volgere del tempo.

I dati biochimici mostrano pure una scarsa differenziazione; per la temperatura sempre il ceppo Rivelloni ha mostrato una lieve maggior adattabilità a 37° C. che gli altri ceppi. Le assimilazioni delle varie fonti di azoto sono state molto analoghe.

In rapporto alla patogenicità, tre dei quattro ceppi (cioè quanti sono stati saggiati) hanno mostrato un debole o debolissimo potere patogeno.

La maggior attività del ceppo Rivelloni, anche alla luce delle osservazioni effettuate a Baarn, si interpreta senza difficoltà con la minor durata della vita colturale rispetto agli altri ceppi.

Per conseguenza ci pare opportuno riferire i quattro ceppi ad un'unica specie, che per ragioni di priorità dovrà essere indicata come *M. pulchella.*

Malbranchea pulchella Sacc. et Penz. (1882)

= *M. Bolognesii-Chiurcoi* Vuill., Poll. et Nann. (1925).
= *M. Kambayashii* Kamb. (1933).

Colture facili a crescere sugli ordinari mezzi solidi di laboratorio, con formazione di una colonia fondamentalmente densa, cotonosa e bianca, ma qua e là sfumata in roseo, in salmone, in giallo ecc. Micelio ramoso, settato, jalino, 2-2,5 μ diam. Irregolare produzione di cortissimi conidiofori laterali, che si allargano producendo un ramuscolo sinuoso o variamente ricurvo, più spesso uncinato, a spirale, subelicoidale o spiralato (proconidio). Il proconidio si setta sino a breve distanza dall'inserzione del ramuscolo sull'ifa sterile, lasciando un breve frammento basale (conidioforo). Raggi di curvatura, numero delle spire o frazione di spira e senso di curvatura variabili. La disgiunzione del proconidio nei singoli elementi (conidi) si effettua alla maniera di un'artrosporulazione, partendo dall'apice e in direzione basipeta. Le dimensioni dei conidi, in generale di 2,5-4,5 μ per 2-2,5 μ, possono giungere sino a 6,5-7,5 μ per 3,4 μ. Sviluppa male oltre i 30° C. e nulla o quasi a 37° C. Assimila quasi indifferentemente nitrato di K, solfato d'ammonio e asparagina; meno bene il peptone. Presenta un nucleo ben definito per ciascun conidio. La patogenicità è scarsa e le lesioni prodotte sono aspecifiche. Manca di vere endospore miceliari, ma il proconidio costituisce, sino ad un certo punto, una individualità morfologica. Produce organi sferici o piriformi acrogeni che non sono organi di moltiplicazione.

Hab. - Isolato da varie lesioni dell'uomo, da corda putrescente e da cartone umido in Italia, Francia e Giappone.

La succinta diagnosi del genere, fatta da Saccardo (29), viene pertanto emendata in rapporto alle ricerche effettuate:

Malbranchea Sacc. emend. nobis (*Hyphales Mucedinaceae Oosporeae*).

Hyphae repentes, septatae, hyalinae vel laete coloratae; sporophora (conidiophora) brevia, lateralia cum proconidio arcuato vel hamato vel helicato, prius continuo, dein 5-10- vel pluri-septato; conidia ex fragmentatione orta, cuboidea, continua, laevia, hyalina.

Tipo:

Malbranchea pulchella Sacc. et Penz. (1882) emend. nobis.

= *M. Bolognesii-Chiurcoi* Vuill., Poll. et Nann. (1925).
= *M. Kambayashii* Kamb. (1933).

Culturis facile crescentibus in omnibus substratis; coloniis densis, effusis, lanosis, subpannosis, albis, sed vage evanescentibus roseis, luteis, flavis, etc. Mycelio ramoso, septato, hyalino, 2-2,5 μ crasso. Hyphis sterilibus repentibus, ramoso-intricatis, interdum anastomosatis; hinc inde minute granulosis. Conidiophoris brevibus, lateralibus, efferentibus ramulum aduncum, spiralatum (proconidium). Septatione ac scissione conidiorum ad instar arthrosporarum, basipetis; arthrosporis oblongo-cylindraceis, utrinque subtruncatis, 2,5-4,5 $\times$ 2-2,5 μ usque 6,5-7,5 $\times$ 3-4 μ, hyalinis vel subhyalinis.

Habitat: In vulneribus corporis hominis, in charta crassiore humida, in chorda putrescente (in Italia, in Gallia, in Japonia).

RIASSUNTO

Gli AA. hanno studiato comparativamente quattro ceppi in coltura di *Malbranchea*, riferiti a tre specie: *M. pulchella* Sacc. et Penz., *M. Bolognesii-Chiurcoi* Vuill., Poll. et Nann. e *M. Kambayashii* Kamb. Lo studio morfologico, colturale, biochimico e patogenetico ha accertato l'identità della *M. pulchella* (un ceppo), con le posteriori specie *M. Bolognesii-Chiurcoi* (due ceppi di cui uno originale) e *M. Kambayashii* (ceppo originale).

Attraverso l'analisi morfogenica e cariologica dei quattro ceppi in coltura, si è tracciata l'evoluzione del fungo dal micelio al proconidio, sino alla scissione di questo in spore. La comparazione del fenomeno di artrosporulazione, quale si osserva con diverse modalità in *Actinomyces*, nei veri Artrosporei (come in *Geotrichum*) e in *Sporendonema*, dimostrano soltanto che si tratta di manifestazioni diverse di un fenomeno fondamentalmente identico, ma non è possibile per il momento trarne ulteriori conclusioni circa eventuali affinità sistematiche.

La posizione sistematica deve comunque essere assegnata tra i *Conidiosporales* nella classificazione Vuilleminiana e negli *Hyphales-Mucedinaceae-Oosporeae* nella classificazione Saccardiana, come del resto si riteneva.

SUMMARIUM

AA. coluerunt atque inquisiverunt inter se comparata quattuor caespitula *Malbrancheae*, ad has tres species pertinentia: *M. pulchellam* Sacc., *M. Bolognesii-Chiurcoi* Poll. et Nann.; *M. Kambayashii* Kamb.

Inquisitio morphologica, culturalis, biochemica, patogenetica effecit ut constaret *M. pulchellam* (unum ex caespitulis) idem esse ac posteriores species *M. Bolognesii-Chiurcoi* (duo caespitula quorum alterum originale) et *M. Kambayashii* (caespitulum originale).

SUMMARY

Four strains of *Malbranchea* (*M. pulchella* Sacc. et Penz., *M. Bolognesii-Chiurcoi* Vuill. Poll. et Nann., *M. Kambayashii* Kamb.) were comparatively studied, and referred to the first species, the oldest. The study has been made from the cultural, morphologic, cytologic, biochemical points of view.

The life-cycle, from mycelium to proconidium up to the conidial schizogenesis has been studied. The arthrosporulation has been compared with the related phenomenon on *Actinomyces*, *Sporendonema* and true Arthrosporeae, like *Geotrichum*, but without systematic affinities based on. In the Vuilleminian systematic it may be classified as one member of Conidiosporales, and in the Saccardian one, in the groupe Hyphales-Mucedinaceae-Oosporeae.

BIBLIOGRAFIA

(1) Baldacci E. — Contributo alla sistematica degli attinomiceti. I, II, Atti Ist. Bot. Pavia. S. IV, v. IX (1937) p. 243-272 e 299-316, III, IV (l. c.) v. X (1938), p. 125-161 e 321-332.

(2) Bolognesi G. e Chiurco G. A. — Sopra una nuova micosi del torace (Malbranchea Bolognesii-Chiurcoi Vuill. Poll. et Nann.). Archivio di Biologia, vol. I, n. 5-6 (1925).

(3) Bostroem — Untersuchungen über die Actinomycose des Menschen. Beiträge zur Pathologische Anatomie und Allgemeine Pathologie, 9 (1890) p. 1-240.

(4) Ciferri R. e Redaelli P. — Studio comparativo di ventun ceppi di Sporendonema epizoum (Corda) nobis. Atti Ist. Bot. Univ. di Pavia, Serie IV, vol. V (1934) p. 145.

(5) Costantin J. — Les Mucedinées simples. Paris 1888.
(6) Dodge C. W. — Medical Mycology. St. Louis 1935.
(7) Drechsler C. — Morphology of the genus Actinomyces. The Botanical Gazette, LXVII (1919) p. 65 e 145.
(8) Duchè J. — Les Actinomyces du groupe albus. Paris 1934.
(9) Ferraris T. — Hyphales, in Flora Italica Cryptogama.
(10) Gasperini G. — Recherches morphologiques et biologiques sur un microorganisme de l'atmosphère. Annales de Micrographie, T. II, n. 10 e 11 (1890).
(11) — Sopra una nuova specie appartenente al genere Streptothrix. Atti. Soc. Tosc. Sc. Nat., a. V, v. VIII (1891) p. 267.
(12) — Ulteriori ricerche sul genere Actinomyces. Ibidem, v. IX (1894) p. 64.
(13) Grigoraki L. — Morphologie et cytologie des Actinomyces. C. R. Acad. Sc., T. 193 (1931) p. 540 e T. 194 (1932) p. 641.
(14) — L'Aleurie: ses formes et sa définition. Revue de Mycologie, t. I, fasc. I, p. 37.
(15) Kambayashi T. — Ueber ein von einer Spezies der Malbranchea hervorgerufenes Hautleiden in China. Arch. f. Derm. u. Syph., Bd. 170, Heft I, p. 97.
(16) Lachner-Sandoval V. — Ueber Strahlenpilze. I, 1898.
(17) Lindau G. — Fungi Imperfecti, in Rabenhorst, Krypt. Fl. v. Deutschl., II Aufl., VIII Abth., Leipzig 1907.
(18) Linder D. H. — A monograph of the Helicosporous Fungi Imperfecti. Ann. of the Missouri Bot. Garden, XVI (1929) p. 227.
(19) — The Genus Helicoceras. Ibid., XVIII (1931) p. 1.
(20) Miehe H. — Thermoidium sulfureum n. g. n. sp.; ein neuer Wärmepilz. Berichte der Deutsche Bot. Gesell., 25 (1907) p. 515.
(21) Neukirch H. — Ueber Strahlenpilze. II, 1902.
(22) Orskoev J. — Investigations into the morphology of the ray fungi. Copenagen 1923.
(23) Pollacci G. — Rassegna sull'attività del R. Laboratorio Crittogamico di Pavia, anno 1936. Atti Ist. Bot. Pavia, Serie IV, vol. IX (1937) p. 323.
(24) Pollacci G. e Nannizzi A. — I miceti patogeni dell'uomo e degli animali. Fasc. V, n. 45 (1926).
(25) — — Repertorio sistematico dei miceti dell'uomo e degli animali. Siena 1934.
(26) Puntoni V. — Pluralità specifica dell'Actinomyces bovis. Annali d'Igiene, Anno XLI (1931) fasc. I.
(27) Rivelloni G. — Isolamento di un raro micete (Malbranchea Bolognesii-Chiurcoi) da micosi umana (nota preventiva). Boll. Sez. Reg. Suppl. G. Ital. Derm. Sif. XVI (1937), p. 384. Il lavoro completo è in corso di pubblicazione.
(28) Rossi-Doria E. D. — Su di alcune specie di Streptothrix trovate nell'aria. Annali dell'Ist. d'Igiene, 1892.
(29) Saccardo P. A. — Michelia II (1882) p. 639.
(30) — Sylloge Fungorum Ucusque Cognitorum. Vol. 4 (1889), p. 2, vol. 32 (1913) Pars IX, p. 1240.
(31) — Notae mycologicae. Annales Mycologici, VI (1908) p. 557.
(32) Sauvageau C. e Radais M. — Sur le genre Cladothrix. Ann. de l'Inst. Pasteur, 7 (1892) p. 242.
(33) Schütze H. — Beitrage zur Kenntnis der thermophilen Aktinomyzeten und ihre Sporenbildung. Arch. Hygiene, 67 (1908) p. 35.
(34) Vuillemin P. — Les champignons parasites et les mycoses de l'homme. Paris 1931.

R. UNIVERSITÀ DI PAVIA
ISTITUTO BOTANICO « GIOVANNI BRIOSI »
E
LABORATORIO CRITTOGAMICO ITALIANO
DIRETTI
dal Prof. GINO POLLACCI

CONTRIBUTO ALLO STUDIO DELLA PREPARAZIONE INDUSTRIALE DEL DIMETOSSIVIOLANTRONE

M. GALLOTTI - G. ACUTO - I. INVERNIZZI

Tra i coloranti della importante serie dibenzantronica ha mostrato, in questi ultimi tempi, grande interesse dal lato industriale il dimetossi-violantrone ottenuto, per la prima volta, da Davies Thosom e Thomas nel 1921 e messo tosto in commercio, dalla Ditta Scottisch Dyes, sotto il nome di verde Jada Caledon.

Dapprima sembrò (1) che gli ossibenzantroni non fossero trasformabili in violantroni. Più tardi però furono ottenuti tali composti da diversi ossibenzantroni per mezzo della fusione alcalina: parte, da quelli contenenti gruppi ossidrilici nel nucleo antrachinonico (meno che in posizione 2), parte, da quelli aventi il gruppo ossidrilico sul nucleo benzenico (meno che in posizione 2') (2).

Gli ossiviolantroni non hanno valore come coloranti, ma l'eterificazione dei gruppi ossilidrici conduce a nuovi coloranti solidissimi, dotati di grande brillantezza e che tingono in toni azzurro-verdi.

Gli ossiviolantroni possono essere ottenuti per ossidazione dei violantroni, per esempio con acido solforico e pirolusite in presenza di acido borico; però, con questo processo si ottengono miscele dei vari ossiderivati ed anche di chinoni (3).

---

(1) Scholl e Seer A. 394-126.154 (1912).

(2) Hochst D. R. P. 414203 (1923); D. R. P. 414924 (1923); D. R. P. 436887 (1924).

(3) Bad. D. R. P. 259370 (1912); 260020 (1912); 280710 (1913); Scottisch Dyes, Murell Hills Works D. R. P. 416208 (1921); 418639 (1921); Vgl. Bad. D. R. P. 395691 (1922); 403394 (1923). — Hochst D. R. P, 420146 (1923). — I. G. D. R. P. 436829 (1922); 438478 (1922); 438467 (1926).

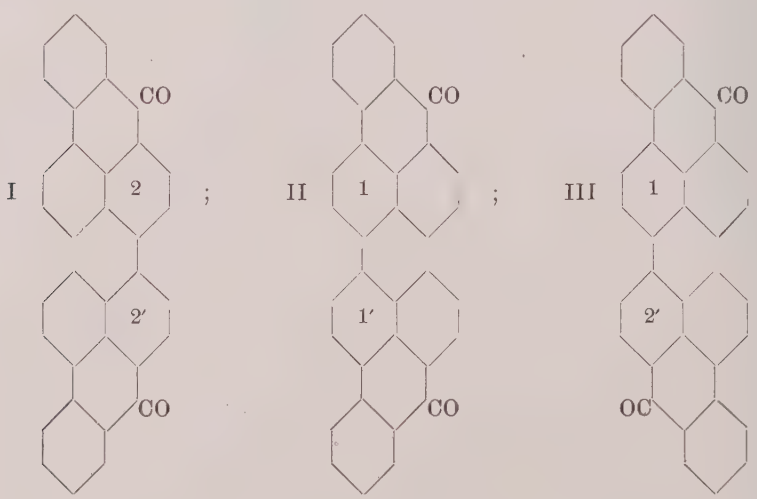
Se si condensano dibenzantronili in presenza o per mezzo di energici ossidanti hanno pure origine gli ossiviolantroni (4).

Nella condensazione del benzantrone a violantrone si può dimostrare la formazione di prodotti intermedi operando in determinate condizioni (5).

Condizioni utili per ottenere prodotti intermedi sono: bassa temperatura, breve durata del riscaldamento, piccole concentrazioni del condensante,

Le analisi e le reazioni dei prodotti così ottenuti fanno ritenere trattarsi del 2 : 2′ dibenzantronile della formula I. Il Bz. 1 : Bz. 1′ (formola II) dibenzantronile (6) si forma riscaldando il Bz. 1 alogeno-benzantrone in solventi inerti ad alto punto di ebollizione in presenza di polveri metalliche. Oppure dal benzantrone per ossidazione in soluzione acida (7).

Il Bz. 1 : 2′ (formola III) dibenzantronile (8) è ottenuto dalla soluzione in anilina di un miscuglio di Bz. 1 alogeno-benzantrone con benzantrone per azione della sodio-ammide in presenza di corrente d'azoto e a bassa temperatura



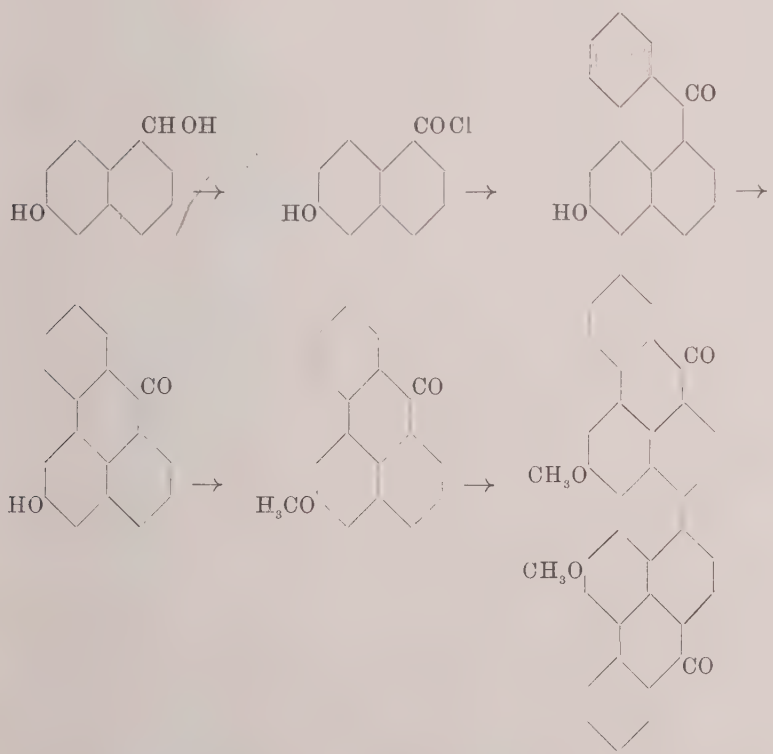
I dibenzantronili possono anche essere ottenuti (9) a partire dagli aminobenzantroni. Si prepara il sale di diazonio dell'amina e per decomposizione di questo, con anidride acetica in presenza

(4) Bad. D. R. P. 411013 (1922).
(5) D. R. P. 407838 (1924); 475476 (1929).
(6) D. R. P. 215006. — Houben. Das antracen und antrachinon 779.
(7) D. R. P. 431774.
(8) I. G. D. R. P. 468475 (1928).
(9) Bad. D. R. P. 215006.

di rame, si ottiene la saldatura dei due residui benzantronici con eliminazione di azoto.

Gli ossidibenzantroni furono preparati (10) a partire dagli acidi -3-6 oppure -7 ossinaftalin-1-carbossilici. Con questo processo, fu appunto preparato dai succitati Autori il dimetossi-violantrone. La brillante ed originale sintesi che riportiamo ne chiarì la costituzione, ma non ha avuto interesse pratico.

Dall'acido 6-ossinaftalin-1-carbossilico, per azione del pentacloruro di fosforo, si ottiene il corrispondente cloruro del radicale acido, il quale per condensazione con benzolo, secondo il metodo Friedel e Crafts, passa all'ossinaftilfenilchetone. Questo composto, per fusione con cloruro di alluminio, fornisce l'ossibenzantrone che metilato e fuso poi con potassa si trasforma nel colorante desiderato:



In questi ultimi anni, lo studio sui dibenzantronili e sui loro prodotti di sostituzione, preparati allo scopo di avere intermedi per coloranti al tino, è stato veramente imponente ma senza arrivare

(10) M. L. B. C. Schirmache e C. Zahn. D. R. P. 414924; — 413738.

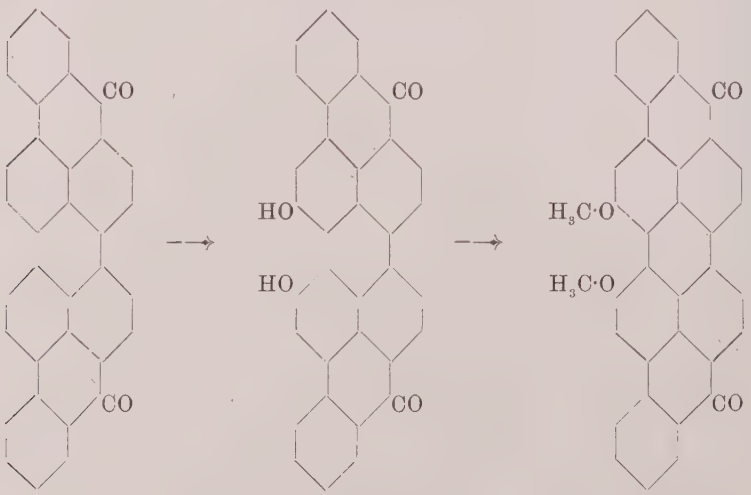
però a grandi risultati pratici. A tale riguardo sono stati richiesti numerosissimi brevetti (11).

Una sintesi di notevole interesse per la fabbricazione del verde Jada è quella che parte dal Bz. 1 clorobenzantrone che mediante acido solforico e la nota reazione di Ulmann fornisce il dibenzantronile solfonato, il quale per fusione con soda si trasforma nel corrispondente ossidibenzantrone che facilmente può essere metilato.

Secondo il brevetto della Scottisch Dyes (12), il dimetossioviolantrone sarebbe preparato per ossidazione del dibenzantrone in acido solforico con biossido di manganese in presenza di acido borico, successiva riduzione e metilazione del prodotto di riduzione. Questo processo non porta però a risultati pratici.

A rese veramente industriali si giunge invece operando molto similmente a quanto è stato detto nel precedente brevetto della Scottisch, ma ossidando, invece del violantrone, il dibenzantronile.

Ed appunto, in questo nostro lavoro, pubblichiamo la marcia, a carattere industriale, per la fabbricazione del verde Jada, non ancora descritta in bibliografia (13). Arriviamo cioè al colorante seguendo lo schema:



(11) E. P. 319365 (1928); E. P. 311661 (1928); E. P. 339934 (1931); D. R. P. 498065 (1930); D. R. P. 489957 (1930); D. R. P. 487973 (1929); D. R. P. 465834 (1928); D. R. P. 499319 (1930); E. P. 342315 (1931); E. P. 348159 (1931); F. P. 705738 (1931); E. P. 365532 (1932); A. P. 1866500 (1932). — J. Soc. Chem. Ind. Japan (suppl.) 35, 577 B-83 B (1932). E. P. 755838 (1933). Schwz. P. 160443 (1933); D. R. P. 499352 (Ber. Atsch. Chem. Ges. 68-45-49 (1935); Schwz. P. 169686 (1934); A. P. 2001063 (1935); A. P. 2022884 (1935).

(12) F. P. 543910 (1921); D. R. P. 416208.

(13) L'idea di questo nostro processo è stata ricavata dall'A. P. 1866501.

Partendo cioè dal dibenzantronile (ottenuto secondo quanto è detto in bibliografia) per ossidazione, in acido solforico con biossido di manganese in presenza di acido borico, si passa al diossiderivato che per trattamento, il soluzione nitrobenzolica-chinolinica, con solfato dimetilico, in presenza di carbonato sodico, fornisce il corrispondente dimetossi che per contemporanea chiusura del nucleo, per effetto della temperatura, si trasforma nel dimetossi-violantrone, con ottime rese.

PARTE SPERIMENTALE

Ossidibenzantronile.

Gr. 250 di benzantronile, di P. F. 270-280°, estratto con acetone, finemente polverizzato e intimamente mescolato a 50 gr. di acido borico in polvere, vengono, a temperatura ordinaria, aggiunti a poco a poco sotto moderata agitazione meccanica, a cc. 600 di acido solforico all'86 %.

Mantenendo la massa in continua agitazione, vengono ora aggiunti, nello spazio di 4 ore, circa 120 gr. di biossido di manganese (preparato per riduzione del permanganato con toluolo) facendo in modo che la temperatura, durante questa aggiunta, non superi i 30°.

La colorazione della massa vira dal rosso ciliegia al rosso-violaceo (color barbabietola).

Terminata l'ossidazione (controllo del tono della soluzione di reazione con un campione di soluzione di ossidibenzantronile, purificato, in acido solforico conc.), si lascia il tutto a sè per qualche tempo e quindi si versa la messa in molta acqua fredda.

Il precipitato raccolto e lavato viene bollito per qualche ora con grande eccesso di bisolfito sodico a 21 Bè. e di nuovo filtrato e lavato a fondo con acqua calda.

Seccato viene estratto con una miscela di nitrobenzolo e piridina e la soluzione ottenuta, contenente il diossiderivato, si conserva per la metilazione.

Titolato un campione di soluzione, risulta che la resa in diossiderivato si aggira sul 70-75 %.

Il diossidibenzantronile si presenta come una polvere amorfa, bruna verdastra, difficilmente cristallizzabile.

Se si bolle con solventi ad alto punto di ebollizione il diossidibenzantronile si trasforma in diossiviolantrone, polvere microcristallina di color nero bleu, a riflessi metallici.

Il diossidibenzantronile si scioglie stentatamente nel nitrobenzolo bollente colorandolo in bleu verdastro con fluorescenza rosso-violacea. È facilmente solubile in piridina, già a freddo, meglio a caldo con colorazione verde smeraldo; così pure nella chinolina colorandola in verde. È pochissimo solubile a freddo nell'anilina, a caldo però si scioglie con colorazione verde malachite. Praticamente insolubile nell'alcool, cloroformio, toluolo, xilolo ecc.

Nell'anidride acetica è praticamente insolubile a freddo; all'ebollizione si scioglie con colorazione rosso vivo con fluorescenza viola.

Il diossidibenzantronile sublima senza fondere a 360°, decomponendosi.

Trattando la sua soluzione solforica con truccioli di rame la colorazione vira al violaceo.

Con idrosolfito di sodio in ambiente alcalino, fornisce un leuco solubile che non ha proprietà tintoriali. Sporca il cotone in nero verdastro.

Dimetossiviolantrone.

La soluzione secca nitrobenzolica-chinolinica, contenente il dibenzantronile, viene titolata per stabilire, grosso modo, la quantità di prodotto da metilare.

Si aggiunge allora una parte, riferita al diossiderivato, di carbonato anidro di sodio ed una di solfato dimetilico e si bolle a ricadere il tutto per due ore.

Dopo tale tempo, si ripete una nuova aggiunta di metilante e di carbonato nelle proporzioni sopradette e di nuovo si riscalda a ricadere per altre due ore.

Si ripete infine il trattamento una terza volta, dopo di che la metilazione è praticamente terminata.

Si distilla a vapore la miscela dei solventi. Si filtra dalla soluzione alcaliua il dimetossiviolantrone separatosi e si lava a fondo con acqua bollente.

La pasta del prodotto grezzo, così ottenuta, viene ripresa con quanta basta di soluzione alcalina, per soda caustica, di idrosolfito sodico in presenza di formalina alla temperatura di 70°-75°. Quasi tutto passa in soluzione ed il filtrato limpido, colorato in azzurro e costituito dal leuco del colorante desiderato, viene fortemente diluito con acqua contenente il 0,5 % di ipoclorito sodico a 21 Bè. e quindi molto lentamente addizionato, sotto moderata agitazione, di acido solforico al 10 % fino a reazione marcatamente acida al congo.

Con questo trattamento, energicamente ossidante, viene precipitato completamente il colorante e distrutte integralmente le impurezze che lo accompagnavano trasformandole in prodotti solubili in soda.

Viene lasciato il tutto a sè fino a che il colorante, finemente precipitato e sospeso nel liquido, siasi completamente portato sul fondo del recipiente e quindi viene decantato il liquido soprastante e lavato per decantazione il residuo.

Il nuovo residuo viene, ora, ripreso con soluzione alcalina e bollito per qualche tempo; quindi filtrato e lavato a fondo con acqua bollente.

La resa è pressochè quantitativa.

Il dimetossiviolantrone si presenta come una polvere amorfa colorata in verde. Si scioglie in acido solforico conc. con colorazione rossa-violacea; nella piridina e nella chinolina la colorazione è verde malachite. Il dimetossiviolantrone è poco solubile nel nitrobenzolo a freddo, più a caldo.

È insolubile nei solventi a basso punto di ebollizione.

Tinge il cotone da bagno alcalino all'idrosolfito (tino bleu con fiore verde) in toni verdi puri e brillanti della massima solidità.

SUMMARIUM

Nova ac magis idonea ratio *Dimetossiviolantronem* mitiore pretio artis ope conficiendi hic editur.

Laboratorio chimico dell' Istituto Botanico.
Giugno 1938 - XVI.

R. UNIVERSITÀ DI PAVIA

ISTITUTO BOTANICO
E LABORATORIO CRITTOGAMICO ITALIANO
diretto dal
Prof. G. POLLACCI

ISTITUTO DI FARMACOLOGIA
diretto dal
Prof. P. DI MATTEI

ATTIVITÀ DELLA *DIGITALIS LANATA* Ehrh. COLTIVATA IN PAVIA

INFLUENZA DELLE RADIAZIONI SOLARI E DELLE MODALITA' DI PREPARAZIONE DELLA POLVERE

P. MARANGONI

L'interesse che per molti anni ha circondato la *Digitalis purpurea L.*, ritenuta fra le molte (20 e più) varietà di *Digitalis* conosciute la sola officinale in tutte le Farmacopee, pare ora convergere sulla *Digitalis lanata* Ehrh. (1) e sui suoi glucosidi.

Si ritorna a verificare per la digitale quello che si è verificato già per lo strofanto: che una specie, una delle ultime considerate in ordine di tempo, si sostituisce e soppianta, poco a poco, la specie officinale. Lo *Strophanthus gratus* è diventato, infatti, officinale nella Farmacopea germanica, è stato accolto dalla Farmacopea spagnola ed ha trovato — da quando le Colonie tedesche del Camerum sono passate ai francesi — numerosi ed autorevoli sostenitori in Francia, pervenendo così a prendere, in parte, il posto dello *Strophanthus hispidus* e dello *Strophanthus Kombé* nelle preparazioni galeniche e nell' industria farmaceutica. (Convenzione internazionale del 1929).

Dimostratasi più ricca in glucosidi cardiocinetici della *Digitalis purpurea*, con un tasso in principii attivi che pare meno legato ai vari fattori ambientali e meno variabile col variare della provenienza geografica della pianta, più facilmente e favorevolmente influenzato dalla coltura, la *D. lanata*, cui viene inoltre riconosciuto

(1) SINONIMI: *D. epiglottidea* Brera; *D. nova* Winterli; *D. orientalis* Elmig; *D. Winterli* Roth.; *D. epiglottis* Scannag.

nei rapporti della *D. purpurea*, una minore azione cumulativa ed una più grande stabilità, va assumendo sempre maggiore importanza.

Una ricca bibliografia si è venuta formando intorno a questa droga e dai primi lavori di Morris (1917) (1), di Baljet (1918) (2) e di De Toni e Tognoli (1918) (3) a quelli recentissimi di Pollacci Gallotti e Fellegara (1938) (4) l'attività terapeutica della *D. lanata*, la sua ricchezza in principii attivi e la loro tossicità, gli organi della pianta aventi il tasso più elevato in glucosidi, le esigenze della raccolta e della conservazione, gli effetti della stabilizzazione ecc., così come le modalità della cultura e i raffronti fra droga spontanea e droga coltivata, fra queste e la droga officinale e — nel campo chimico — la separazione dei vari glucosidi, la loro composizione e le loro proprietà sono state largamente oggetto di studio (Dafert; Dafert, Lasch e Englisch; Fritz; Himmelbaur; De Graaff; Hecht; Wokes; Perrot, Bourget, Raymond-Hamet; Boshart; Rabbeno e Marini; Wasicky; Morris; Dezani; ecc.).

I vantaggi non indifferenti che sono chiaramente emersi da queste numerose ricerche in favore della *D. lanata*, sia dal lato farmacologico e terapeutico, come dal lato economico, non fanno che incoraggiare continui tentativi di coltura (che, del resto, non presenta particolari difficoltà nè richiede speciali cure): tentativi che in pochi anni hanno condotto alla coltivazione in grande della *D. lanata*, e quindi alla sua utilizzazione commerciale e al suo impiego nell'industria chimico-farmaceutica. Impostasi così rapidamente la *D. lanata* ha pertanto richiamato anche l'attenzione degli Esperti della Conferenza per la standardizzazione biologica, riunita sotto gli auspici del Comitato d'Igiene della Società delle Nazioni, i quali hanno considerato l'opportunità di mettere allo studio il problema della scelta e dell'adozione di uno standard per la titolazione della *D. lanata* (1-4 ottobre 1935).

Anche in Italia non sono mancati, insieme agli studi sulle altre varietà di Digitale (Piccinini, Vergnano, Scagliola, ecc.) tentativi di coltivazione e ricerche sulla *D. lanata* coltivata: i dati finora a me noti riguardano la *D. lanata* coltivata a Modena (De Toni e Tognoli, 1918), in Piemonte (Dezani e Borsalino-Semeria, 1933; Bertonasco, 1934) e a Camerino (Rabbeno e Marini, 1935). Le conclusioni a cui i vari autori sono pervenuti sono qui sotto riportate:

***Digitalis lanata* coltivata a Modena**: De Toni e Tognoli, già nel 1918, in base a ricerche chimiche e fisiologiche praticate su foglie fresche ed essicate, sia di *D. lanata* che di *D. purpurea*

pervengano a " concludere con certezza che anche la *Digitatis lanata* Ehrh. contiene i principii attivi notoriamente contenuti nella *D. purpurea* e che può quindi sostituire questa specie nelle sue applicazioni medicamentose „ e si propongono di stabilire ulteriormente " se potrà divenire pratica e redditizia la utilizzazione commerciale di detta specie, facilmente coltivabile nelle nostre regioni „.

Digitalis lanata **coltivata in Piemonte:** In Piemonte la *D. lanata* venne coltivata nel 1931-32 a Casalgrasso (Cuneo), alt. 240 sul l. m. e nel 1933-34 a Valperga (Torino), m. 390 circa di altitudine. La droga proveniente dalla provincia di Cuneo venne studiata dal Dezani insieme alla Borsalino-Semeria (5), l'altra fu studiata dal Bertonasco (6).

Dezani e Borsalino-Semeria proponendosi di ricercare, " se la *D. lanata*, pianta spontanea dell'Epiro, della Tessaglia, della Romania e dell'Ungheria, coltivata in Italia potesse conservare il suo *habitus* e le sue proprietà farmacologiche „ pervennero a stabilire, con titolazioni sul cuore di rana *in situ* e sull'animale *in toto*, che " la coltura della *D. lanata* anche in condizioni lontane da quelle normali al suo *habitat*, non ne ha attenuato punto l'attività, attività che è in perfetta concordanza coi dati degli altri autori e si può considerare circa quattro volte superiore a quella della purpurea „. Di più, prendendo in esame anche i fiori e i semi, conclusero che non soltanto nelle foglie sono localizzati i principii attivi, ma che altri organi della pianta si rivelano notevolmente ricchi e precisamente l'attività dei fiori non è inferiore a quella delle foglie e ancora che l'attività dei semi è, a sua volta, 4-5 volte superiore a quella delle foglie e dei fiori. Nessuna cura particolare fu dedicata alle piante (i cui semi provenivano dal Landwirtschaftlich-chemische Bundesversuchsanstalt) che " crebbe rigogliosamente raggiungendo in media l'altezza di m. 1-1,5 „.

Titolando la *D. lanata* coltivata a Valperga col metodo di Focke, Bertonasco ne ha pure potuto riconoscere la notevole attività ed ha stabilito che " la *Digitalis lanata*, coltivata nelle stesse condizioni della *D. purpurea* a m. 390 di altitudine fornisce foglie aventi azione farmacologica tripla di quella della *D. purpurea* „.

Digitalis lanata **coltivata a Camerino,** alt. 630 m., negli anni 1931-32 e 1932-33, in luogo non molto soleggiato, da semi provenienti dall'Orto Botanico di Budapest. Applicando il metodo della mortalità percentuale di Shackell-Trevan nella rana esculenta Rabbeno e Marini (7) concludono che " comparando l'attività della *D. purpurea* e della *D. lanata*, quest'ultima si è dimostrata del

25% più attiva della *D. purpurea* coltivata a Camerino, come di un campione di *D. purpurea* preparato dalla Casa Erba ad uso di campione di riferimento „.

Questi dati concordano con quelli noti per droghe coltivate fuori d'Italia, dove sono già utilizzate industrialmente e riconfermano per la *D. lanata*, coltivata nelle nostre regioni, quei caratteri e quelle proprietà che hanno fatto convergere sulla droga le ricerche di botanici, di farmacologi e di chimici.

Pertanto il reale interesse, anche economico, che è andato guadagnando la *D. lanata* meritava giustamente di richiamare ancora — e specie nel momento attuale — l'attenzione degli studiosi italiani. E, con ragione, nell'elenco delle varie *Digitalis lanata* coltivate in Italia, non poteva non figurare quella coltivata a Pavia, a sempre più valorizzare una droga che proprio a Pavia fu coltivata per prima, oltre un secolo fa. Infatti " nei cataloghi dell'Orto Botanico di Parma 1796 e 1802 figura coltivata la *D. epiglottis* H. Ticinensis, donde appare che i primi semi vennero distribuiti dall'Orto di Pavia, nel quale venne la specie mantenuta in coltura, con quel nome, fino alla metà del secolo XIX: la si trova indicata anche nei cataloghi di Bologna (1839-1842), Firenze 1818-1829), Genova (1843). Appare menzionata in Scannagatta G.: Catalogus Plantarum Horti Botanici Ticinensis: Papiae 1797, Bolzani; ecc. ecc. „. (De Toni e Tognoli, loc. cit. pag. 206).

Nè la *D. lanata* (o *epiglottis*) fu allora nota solo ai botanici e interessò unicamente come specie botanica, giacchè più di un secolo fa venne frequentemente impiegata nella pratica medica in sostituzione della *D. purpurea* (V. L. Brera, 1806-1810). Tuttavia queste, che si possono forse considerare le prime ricerche sulla *D. lanata* non ebbero seguito da noi e oltre un secolo doveva trascorrere prima che esse venissero riprese (Morris, 1917), e che fosse di nuovo riconosciuta e segnalata la notevole attività della droga.

*
* *

Negli anni 1934-35 e 1935-36 fu coltivata — in condizioni diverse di esposizione — nell'Orto Botanico dell'Università di Pavia una notevole quantità di *D. lanata* e una parte delle foglie raccolte dalle due semine fu gentilmente messa a mia disposizione dal Direttore Prof. Pollacci. Potei così costituire due tipi di polvere, uno a rappresentare la droga che maggiormente aveva usufruito delle radiazioni solari, l'altro a rappresentare quella che ne aveva usufruito meno.

Il terreno fu in entrambi i casi uguale, cioè terreno soffice da giardino (siliceo), concimato con stallatico. Nel periodo del maggior calore e della maggiore vegetazione le piante furono innaffiate, al massimo, una volta ogni due giorni. Le piante crebbero benissimo e raggiunsero, in media, l'altezza di m. 1: per le foglie si ottennero dimensioni di 10-12 cm. di lunghezza per 1-2 di larghezza (1).

La raccolta fu fatta, per un lotto, quello costituito da foglie provenienti da piante meno esposte alle radiazioni solari, a fine giugno, per l'altro a fine maggio, in ogni caso all'inizio della fioritura (2° anno di coltivazione) scegliendo le foglie verso la base della pianta. Accuratamente essicata all'ombra la droga fu conservata in scatole di latta in ambienti ben secchi (2).

L'influenza che le condizioni ambientali ed altri fattori di diversa natura possono avere sul rendimento delle colture e sulla ricchezza in principii attivi della droga sono in parte noti [Dafert e Wallentin, 1924; Himmelbaur e Wallentin, 1925; Perrot, Bourget-Raymond e Hamet, 1931 (8); Boshart, 1931 (9)] ma per la massima parte restano ancora da esaminare, da riconoscere e da precisare.

Si sa infatti che la *D. lanata* non ha esigenze particolari circa la scelta del terreno e che non richiede speciali cure; che il tasso in principii attivi non è influenzato, in modo notevole, dalla spaziatura e dall'ablazione dei bottoni floreali; che una certa influenza hanno le precipitazioni atmosferiche sul rendimento il quale risulta sensibilmente abbondante nelle annate piovose; che favorevole azione pare possa venire attribuita ad alcuni fertilizzanti artificiali; sembra, inoltre, anche accertato che le piante di un anno possono ritenersi più ricche in glucosidi di quelle di due anni, così come le foglie caulinari nei confronti di quelle della base; che delle due raccolte che sono possibili nell'annata la prima è migliore della seconda; che le foglie raccolte alla sera sono da considerarsi più attive di quelle raccolte il mattino; che la droga essicata a 70° è meno attiva di quella essicata a temperatura ambiente ecc.; ma ancora ben poco si sa su quelle che dovrebbero essere le condizioni *optimum* della cultura e su quell'insieme di fattori che condizionerebbero in maggiore misura l'attività della droga e ne favorirebbero, nei confronti di altri, la coltivazione a scopo industriale.

---

(1) Nelle foglie spontanee le dimensioni sono, secondo Dezani, 5-10 × 1-2 cm. in quelle coltivate a Cuneo 15-20 × 2-3.

(2) La titolazione biologica fu, quindi, praticata a due anni di distanza dalla raccolta.

Così, per esempio, se è noto che la *D. lanata* non ha particolari esigenze di terreno resta tuttavia da stabilire come e in quale misura l'attività fisiologica della droga possa venire influenzata da un terreno siliceo piuttosto che da un terreno calcareo, oppure dalla presenza di uno piuttosto che dell'altro fertilizzante; così come resta a sapere se l'altitudine o il clima, l'esposizione alla luce solare o l'epoca della raccolta, ecc. possono influire efficacemente sul rendimento della cultura e quindi se è possibile assicurare alla droga coltivata — quando siano anche riconosciute come particolarmente favorevoli determinate modalità di raccolta, di essicamento e di conservazione — una maggiore costanza di caratteri e quindi una maggiore costanza di attività.

L'influenza, per esempio, che le radiazioni solari hanno sul contenuto in principii attivi degli organi della pianta, deve ancora essere studiata e precisata. Perchè quand'anche fosse bene accertata, come in generale lo è per tutte le droghe, l'influenza che la esposizione alla luce solare ha sullo sviluppo della pianta, è pur notó che vegetazione lussureggiante non significa, in ogni caso, alto tenore in principii attivi e che particolari condizioni di esposizione alla luce solare possono notevolmente influire sull'attività di una droga. I dati noti — dalla belladonna alla cincona, dalla coca al ricino, ecc. — se pure non numerosi sono tuttavia tali da far ritenere che il problema meriti di essere studiato anche per la *D. lanata*.

Nè per la *D. purpurea*, con cui può essere interessante il raffronto, i dati noti sono da considerarsi, sotto questo rapporto, definitivi. Si sa, è vero, che allo stato spontaneo, la pianta è di solito trovata nelle posizioni semiombreggiate (ciò che farebbe ritenere non avere le radiazioni solari importanza fondamentale), tuttavia è da ricordare che pare ormai accertato che la luce del sole favorisce la formazione dei glucosidi, poichè durante la notte essi appaiono parzialmente idrolizzati così che viene consigliato di raccogliere le foglie nel pomeriggio, quando esse sono state bene illuminate per alcune ore. Studiando, infatti, l'influenza della luce sulla proporzione di principii attivi è risultato (Dafert) che la droga raccolta al mattino fornisce un estratto che è tossico, per la rana, in dose quasi doppia di quello fornito dalla droga che ha potuto usufruire, invece, durante la giornata della luce del sole. Secondo Chévalier la digitale che vegeta quasi all'ombra è molto più attiva di quella che cresce sotto la diretta azione dei raggi solari: Goris e Demilly invece consigliano di coltivare la digitale in pieno sole.

A stabilire l'influenza delle radiazioni solari sul contenuto in principii attivi della *D. lanata* l'attività dei due campioni provenienti da droghe diversamente esposte alla luce fu titolata biologicamente ricorrendo al metodo di Hanzlick (11) (pigeon emesis method) basato, come è noto, sulla determinazione della dose minima (o media) emetica di digitale nei piccioni. La titolazione fu condotta, per le due droghe, in condizioni perfettamente identiche in modo da poter mettere i risultati ottenuti su un piano il più possibile idoneo al confronto, Gli estratti furono preparati secondo le norme stabilite dalla 2ª Conferenza Internazionale per la standardizzazione biologica dei medicamenti (Ginevra 31 Agosto - 3 Settembre 1925).

I dati ottenuti (media di non meno di 4 prove per ciascuna dose) sono i seguenti:

D. M. E. relativa alla droga più esposta alla luce solare

Dose iniettata per Kg. di animale	Esito
cc. 0.25 dell'estratto	∓
» 0.30 »	+

D. M. E. relativa alla droga meno esposta alla luce solare

Dose iniettata per Kg. di animale	Esito
cc. 0.25 dell'estratto	—
» 0.30 »	—
» 0.35 »	—
» 0.40 »	—
» 0.45 »	—
» 0.50 »	+

La droga proveniente da piante maggiormente esposte al sole appare dunque, anche tenuto conto delle oscillazioni e dei margini di errore del metodo, sensibilmente più attiva, ciò che, riconfermando ancora una volta l'influenza che sul contenuto in principii attivi ha la scelta della esposizione alla luce, segnala, per la droga coltivata, un fattore non trascurabile di successo.

Nè è a credere che la droga proveniente da piante meno esposte al sole e per la quale è risultata una minore attività non meriti alcuna considerazione: essa si dimostra, infatti, per quanto in grado inferiore all'altra, attiva in misura elevata; notevolmente, cioè, più attiva della droga officinale. Il confronto è stato eseguito colla polvere di *D. purpurea* del campione internazionale, cioè con

una droga che, per risultare dalla miscela di 10 polveri diverse di *D. purpurea* di varia provenienza può considerarsi, e viene infatti considerata, come rappresentante l'attività media della *D. purpurea*. I dati ottenuti dalla titolazione (metodo di Hanzlick) sono:

D. M. E. relativa alla droga più esposta alla luce solare .	cc. 0,3 dell'estratto	per Kg. di animale
D. M. E. relativa alla droga meno esposta alla luce solare .	„ 0,5 „	„ „
D. M. E. relativa al campione internazionale (D. purpurea)	„ 1 „	„ „

Da questi dati risulta che mentre
l'attività di 1 gr. di polvere standard (*D. purpurea*) è di 10 U. I.
„ „ 1 „ „ di *D. lanata* è di 20-33 U. I. (¹).

Un altro fattore che, in altro campo, nei rapporti cioè delle modalità da seguirsi per la preparazione della polvere di *D. lanata* poteva essere di un certo interesse, è pure stato preso in esame.

Poichè, a proposito della *D. purpurea*, la nostra Farmacopea, come la maggior parte delle Farmacopee straniere, esige che: " si prepari la polvere con la polverizzazione senza residuo „ era da chiedersi se è opportuno che tale norma sia mantenuta anche nei riguardi della *D. lanata*. Già per la *D. purpurea* esistono dati che farebbero ritenere questa esigenza non giustificata, non solo, ma — sulla base delle ricerche finora note — del tutto sconsigliabile. Infatti recentemente Gazeau (12), riconfermando i dati di Van Italie, ha segnalato che le foglie di digitale, private dei picciuoli e delle nervature, sono più ricche in digitalina delle foglie intiere e precisamente che " le tinture e gli estratti di foglie *denervate* sono da 1 a 5 volte più ricche in digitalina delle tinture e degli estratti officinali e le polveri *denervate*, oltre a conservarsi meglio, sono in media 2-3 volte più ricche in digitalina delle polveri officinali „. Manca alle conclusioni di Gazeau (come ammette lo stesso A.) la conferma della titolazione biologica, tuttavia i risultati riferiti — desunti dal dosaggio della digitalina col metodo Perrot-Bourget — sono tali da far ritenere che l'accertamento di dati

(¹) La droga coltivata a Pavia è stata lavorata per l'estrazione dei glucosidi e una soluzione al 0,05 % del complesso glucosidico (miscuglio delle 3 digilanidi A B C) ottenuto, è stata pure messa a mia disposizione dal prof. Pollacci. Dalle titolazioni eseguite risulta che la D. M. E. è di mgr. 0,4.

analoghi, nei riguardi della *D. lanata*, non sia da trascurare, come utile per fissare una delle tante modalità di preparazione della droga da cui può dipendere la sua maggiore o minore attività.

I dati a cui si perviene in base alla titolazione biologica (metodo di Hanzlick) sono i seguenti:

D. M. E. relativa alle foglie intiere

N.	Peso in gr. del piccione	Dose iniettata	Esito
1	378	cc. 0,0945	—
2	387	» 0,0967	—
3	380	» 0,0950	+
4	383	» 0,0957	—

D. M. E. relativa alle foglie denervate

N.	Peso in gr. del piccione	Dose iniettata	Esito
1	380	cc. 0,095	—
2	376	» 0,094	—
3	370	» 0,092	+
4	370	» 0,092	—

Da essi risulta che per la *D. lanata* nulla consiglia l'impiego di foglie denervate o meno, giacchè l'attività della droga nei due casi risulta perfettamente uguale. Le esigenze della F. U. che a proposito della *D. purpurea*, vuole la polverizzazione senza residuo non ha quindi finora, in base ai dati acquisiti, motivo di sussistere anche per la *D. lanata*.

CONCLUSIONI

1) La *Digitalis lanata* coltivata a Pavia ha fornito foglie la cui attività si è dimostrata di gran lunga superiore a quella della *D. purpurea* standard internazionale. Infatti mentre l'attività di 1 gr. di polvere standard è di 10 U. I. quelle di 1 gr. di polvere di *D. lanata* è di 20-33 U. I.

2) Importanza considerevole è da attribuire, per la coltura, all'esposizione alla luce solare. La droga coltivata in zone maggiormente esposte al sole risulta più ricca in principî attivi di quella coltivata in zone più ombreggiate: 30-33 U. I. rappresentano l'attività della prima, 20 U. I. quella della seconda.

3) La presenza delle nervature non accresce l'attività della polvere. La pratica della polverizzazione senza residuo, voluta dalla F. U. per la *Digitalis purpurea*, non avrebbe ragione di essere richiesta per la *Digitalis lanata*, giacchè nessuna influenza pare abbia, sull'attività della droga, l'assenza o meno delle nervature.

SUMMARIUM

Digitalis lanata, quae in Horto Botanico Ticinensi colitur, folia obtulit, quibus constitit vim medicinalem multo maiorem inesse quam *Digitali purpureae*, standart internazionale vulgo appellatae. Nam cum vis 1 gr. pulveris standart sit 10 U. I., vis eiusdem ponderis pulveris ex *D. lanata* confecti est 20 U. I.

Ad copiam medicamenti augendam plurimum interest ut plantae luci solis expositae habeantur: quo magis luci solis expositae plantae pubescunt, eo copiosius medicamentum in eis invenitur; nam 30-33 U. I. est vis medicinalis earum plantarum, quae locis prorsus apricis, 20 U. I. earum plantarum, quae locis minus apricis provenerunt.

Foliorum nervi, cum adsint, vim medicinalem pulveris non augent. Itaque usus redigendi folia in pulverem huiusmodi, qui nihil residui praebeat, quem usum F. U. praescribit cum de *D. purpurea* agitur, non est praescribendus cum agitur de *D. lanata*; nihil enim interest, ut videtur, ad augendam vim huius aromatis utrum in conficiendo pulvere foliorum nervi quoque adhibeantur necne.

BIBLIOGRAFIA

1) Morris R. E. — Pharmacology of various species of *Digitalis*. Pharm. Journ., 1917, *44*, 375.

2) Baljet H. — Sur la localisation des glucosides actifs dans les feuilles du genre *Digitalis*. J. Suisse de Pharm., 1918, *56*, 248; 262.

3) De Toni G. B. e Tognoli E. — Osservazioni botaniche e sperimentali intorno alla *Digitalis lanata* Ehrh. Atti R. Ist. Veneto di Scienze, Lettere ed Arti, 1918-19, *78*, 201.

4) Pollacci G., Gallotti M., Fellagara C. — Sulla *Digitalis lanata* Ehrh, pianta medicinale italiana. Atti dell'Ist. Botanico Università di Pavia, 1938, serie IV, *11*.

5) Dezani S. e Borsalino-Semeria A. M. — Ricerche sulla *Digitalis lanata* Ehrh. coltivata in Piemonte. L'industria chimica, 1933, *8*, 1127.

6) Bertonasco E. — *Digitalis lanata* e *Digitalis purpurea*. Giornale di farmacia, di chimica e di Sc. aff. 1934, *83*, 421.

7) Rabbeno A. e Marini O. — Azione farmacologica comparata della *Digitale lanata* e della *D. purpurea*. Arch. intern. Pharmocodyn. et Thér, 1934 *48*, 297.

Id. — Nuovi aspetti della farmacologia della digitale. La « *Digitalis lanata* » Ehrh.. Rassegna clinico-scientifica, 1934, *12*, 527.

8) Perrot R., Bourget P., Raymond-Hamet — Une nouvelle digitale. « *Digitalis lanata* » Ehrh. Bull. Sc. Pharmacol. 1931, *38*, 7 ; Bull. de l'Acad. de Médicine, 1930, *104*, 303.

9) Boshart — Cultivation of *Digitalis purpurea* and *Digitalis lanata*. Quart. Journ., 1931, *4*, 641.

10) Dafert O. — L'influence de la lumière sur la proportion des principes actifs de la digitale. Bull. Sc. Pharmacol. 1924, *31*, 312

11) Hanzlick P. J. — A new method of estimating the potency of digitalis : pigeon-emesis. Journ. of Pharmacology and exp. Ther., 1929, *35*, 363.

12) Gazeau Ch. — Sur les poudres de digitale. Comparaison de la poudre officinale et de la poudre énervée pendant les années 1928 et suivantes. Bull. Sc. Pharmacol. 1933, *40*, 102.

R. UNIVERSITÀ DI PAVIA
ISTITUTO BOTANICO « GIOVANNI BRIOSI »
E
LABORATORIO CRITTOGAMICO ITALIANO
DIRETTI
dal Prof. GINO POLLACCI

PRIMO REPERTO IN ITALIA DEL FUSARIUM MONILIFORME Sheld. PARASSITA DEL RISO (ORYZA SATIVA L.)

Nota preliminare del Dott. FLAVIO GIUSEPPE ELISEI
Assistente al R. Istituto Botanico

(Con 7 figure nel testo)

L'*Oryza sativa* L., nei suoi vari stadi di sviluppo, viene talora gravemente danneggiata da alcuni *Fusarium*.

Questi *Fusarium*, dei quali nessuno finora è stato riscontrato in Italia in qualità di parassita del *Riso*, sono i seguenti:

Fusarium moniliforme Sheld. (*Gibberella Fujikuroi* (Saw.) Wr.)
Fusarium graminearum Schwabe (*Gibberella Saubinetii* (Mont.) Sacc.)
Fusarium culmorum (W. G. Sm.) Sacc.
Fusarium arthrosporioides Sherb.

Il *Fusarium moniliforme* Sheld. produce sul *Riso* la malattia chiamata *Bakanae*, della quale una caratteristica frequente è la più rapida crescita in lunghezza delle giovani piante di *Oryza sativa* L. che poi ingialliscono e in gran parte muoiono. Le piante adulte invase dal fungo hanno il fusto e le foglie giallastri e più o meno ammuffiti.

Questa malattia è diffusa in Cina, Giappone, India, nella Guinea inglese, nelle Filippine e nel Madagascar.

Il *Fusarium graminearum* Schwabe è causa del *mal del piede del Riso*, malattia corrispondente a quella del *Grano*. Le piante giovani e quelle adulte possono morire per putrefazione delle radici e dei fusti; anche le pannochie ammuffiscono con danno delle ca-

riossidi. Questa malattia è diffusa specialmente in Giappone e nell' Uganda.

Gli altri due *Fusarium*, *F. culmorum* (W. G. Sm.) Sacc. e *F. arthrosporioides* Sherb., sono stati segnalati in Bulgaria nel 1932, come agenti di disseccamento e di putrefazione dei fusti del *Riso*.

Questi quattro *Fusarium* sono tutti più o meno cosmopoliti e parassiti, oltre che del *Riso*, di molte altre Graminacee e di piante di famiglie diverse.

Così il *Fusarium moniliforme* Sheld., che di preferenza vive nelle regioni tropicali e subtropicali dell' Asia, Affrica, America e dell' Australia, può essere un parassita temibile per le seguenti piante:

Allium (marciume dei bulbi tenuti in magazzini poco freschi e areati);
Ananas sativus Sch. (disseccamento o putrefazione delle radici, dei fusti, delle foglie e delle infruttescenze);
Asparagus plumosus Bak. e *A. sprengeri* Reg. (in serra marciume delle radici);
Celosia cristata L. (disseccamento di tutte le parti aeree della pianta);
Coffea (marciume delle radici e del caule delle piantine);
Coniferae (marciume di semi e di plantule);
Freesia (marciume del bulbo);
Gladiolus (marciume dei bulbi);
Gossypium (marciume radicale della pianta adulta, marciume dei frutti, marciume delle radici e dell' ipocotile delle piantine);
Musa (marciume dei frutti);
Pyrus Malus L., (marciume dei frutti tenuti in magazzino);
Saccharum officinarum L. (dissecamento delle foglie e dei fusti);
Solanum Lycopersicum L. (marciume dei frutti);
Solanum tuberosum L. (marciume dei tuberi);
Sorghum vulgare Pers. (ammuffimento delle pannocchie);
Theobroma Cacao L. (disseccamento dei fusti);
Trifolium (marciume delle radici);
Zea Mays L. (marciume delle radici delle piantine e delle pannocchie).

Questo *Fusarium* in qualità di parassita veramente dannoso, è stato riscontrato solo poche volte in Europa e mai, si può dire, in Italia. Baldacci E. lo ha trovato in Italia sulle parti aeree di piante ammalate di *Ricinus communis* L. e sui semi di queste;

ma lo considera solo come un debole parassita e come un agente parziale della malattia (1).

Mancano poi dati per poter asserire con sicurezza che l'*Oospora verticillioides* Sacc., segnalata da tempo e recentemente (2) su cariossidi ammalate di *Zea Mays* L. in Italia, sia da identificarsi col *Fusarium moniliforme* Sheld.

Questo premesso, credo che sia di grande interesse quanto adesso verrà brevemente esposto.

Nei primi di agosto del corrente anno 1938-XVI sono state inviate al Laboratorio Crittogamico di Pavia dalla Stazione Sperimentale di Risicoltura di Vercelli alcune piante adulte di *Riso* della *varietà* di recente selezione *Giovanni Roncarolo.*

Queste piante provenienti da risaia in buone condizioni colturali, presentano le radici sane, ma il fusto e le foglie gialli e ammuffiti. Di tali piante ammalate sono presenti nella risaia circa sei per mille (3).

La muffa è bianca, alta talora anche 0,5-2 mm.; si osserva oltre che in basso, anche nel mezzo e nelle parti superiori della pianta. Essa è presente sulle guaine e sui lembi fogliari, tanto sulla pagina esterna come su quella interna, dove però è più scarsa. Ricopre quasi tutti i nodi del caule, mentre molti internodi ne sono del tutto privi (Figg. 1-2-3).

Il fatto che questo fungo è particolarmente sviluppato nelle regioni nodali del fusto si può facilmente spiegare pensando che queste sono le parti del caule più ricche di sostanze nutritive, perchè i vasi conduttori nel nodo deviano dalla verticale e quindi determinano un ristagno dell'acqua e degli assimilati. Anche le radici avventizie, come è noto, nelle graminacee e nelle altre piante si sviluppano di preferenza, per le stesse ragioni, nelle regioni nodali del fusto.

---

(1) Baldacci E. — *Ricerche intorno ad una infezione del Ricinus communis attribuita a Fusarium ricini (Berengèr) Bizz.* Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, s. IV, Vol. X, pp. 37-49, 1937.

(2) Nannizzi A. — *Note micologiche.* Atti R. Acc. Fisiocr. Siena, s. V, Vol. 3, pp. 72-79, 1930.

Peglion V. — *Presenza della Nematospora Coryli nel granturco cimiciato.* Mem. R. Acc. Bologna, s. IX, II, 1934-1935.

(3) La risaia appartiene al Cav. Castagno e si trova a Ponzana, vicino a Cameriano (Novara).

Insieme alla muffa bianca o vicino a questa si osserva poi qua e là, sul caule come sulle foglie, quasi una *polvere granulare* biancastra o del colore della terra cotta.

La muffa bianca col disseccarsi del substrato diventa in alcuni punti decisamente azzurra e fra le sue ife mostra alcuni noduli

Fig. 1. — Mufta bianca sulla parte inferiore di piante adulte di *Oryza sativa* L., colpite da fusariosi *(Fusarium moniliforme* Sheld.), grand. nat.

sferoidali dello stesso colore visibili al microscopio, perchè grandi solo alcune diecine di micron.

Se si fanno sezioni trasversali sottili di una parte aerea qualunque della pianta, anche là dove i tessuti non sono molto ingialliti e dove manca qualsiasi traccia di muffa esterna bianca o azzurra e di polvere granulare, si può facilmente osservare che tutti i tessuti, fuorchè gli sclerenchimi, sono invasi da un sottile

micelio ialino, che percorre le cavità cellulari, gli spazi intercellulari, e le lacune aerifere. Questo micelio attraversa l' epidermide e si continua con la muffa o con la polvere granulare sopradescritte.

Si può dire quindi che la pianta è percorsa in un tratto notevole della sua lunghezza e nel suo interno dal micelio di un fungo.

Fig. 2. — Muffa bianca sui nodi del caule di piante adulte di *Oryza sativa* L., colpite da fusariosi (*Fusarium moniliforme* Sheld.), grand. nat.

La *muffa bianca* è costituita in parte da ife vegetative e in parte da conidiofori.

Le ife sono ialine, per lo più cilindriche e lisce, ramificate, settate. Qua e là sono in esse presenti pure articoli ingrossati a forma quasi di pera, e talora la loro superficie è scabra. Il loro diametro varia da 2 micron a 7,5 micron. Esse sono più spesso isolate, raramente riunite in fascetti.

I *conidiofori*, presenti in grandissimo numero, sono in parte portati dalle ife sopradescritte, e in parte sorgono perpendicolarmente dai tessuti esterni della pianta ospite. Possono essere semplici, ma quasi sempre sono più o meno ramificati in modo verticillato o subverticillato. Sono ialini, pluricellulari, lunghi da poche a molte diecine di micron. La loro larghezza è variabile come quella delle ife vegetative, perchè anche qui sono spesso presenti

Fig. 3. — Un nodo caulinare con muffa bianca, ingrandito 8 volte.

articoli ingrossati, piriformi o quasi sferici, i quali possono anche raggiungere il diametro di 10 micron. Essi sono lisci oppure scabri. Più costante è la larghezza e la lunghezza dei rametti conidiferi, molto simili ai conidiofori semplici. Questi rametti sono uni o bicellulari, larghi alla base (3 micron) e attenuati all'apice (2 micron), lunghi 12,5-37 micron (Fig. 4).

I *conidî* portati dai conidiofori sopradescritti, sono lisci, ialini, ovoidali, cilindrici ottusi, fusiformi, leggermente piriformi, diritti o un po' arcuati, uni o bicellutari, 7-17 X 2, 5-3 micron (Figg. 5-6).

Molto caratteristico è il fatto che conidî uguali possono essere portati dal conidioforo in due modi del tutto diversi: in pseudocapolini o glomeruli e in catenelle.

Lo *pseudocapolino o glomerulo* è una masserella di conidî sferoidale, larga dai 10 ai 25 micron, situata in modo isolato all'apice del conidioforo semplice o del rametto conidifero del conidioforo ramificato. Si stacca con molta facilità dal suo sostegno e più o meno rapidamente i suoi componenti si allontanano l'uno dall'altro (Fig. 4).

La *catenella* di conidî è portata come lo pseudocapolino ed è una formazione forse ancora più labile. Può essere lunga anche diverse diecine di micron (Fig. 6).

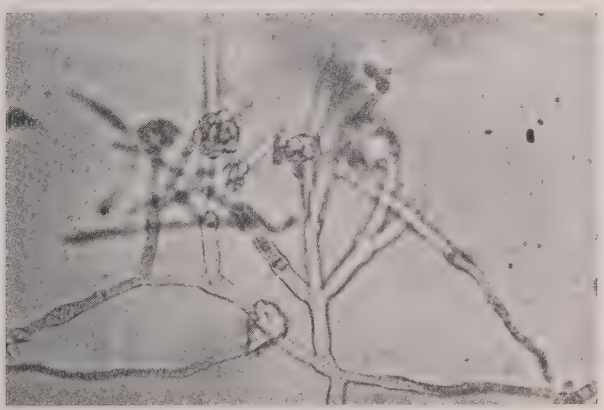


Fig. 4. — *Fusarium moniliforme* Sheld. Conidiofori con pseudocapolini o glomeruli di microconidî, X 820.

Lo studio delle sezioni trasversali del fusto e delle foglie dimostra nel modo più chiaro che questa muffa bianca è la parte esterna del fungo che percorre l'interno della pianta, anche nelle parti ancora alquanto verdi di essa.

La *polvere glomerulare* biancastra o del colore della terracotta è costituita da sporodochî superficiali, in ciascuno dei quali è presente un grandissimo numero di conidî lisci, ialini, arcuati o diritti, fusiformi, con la base spesso a forma di un piccolissimo piede, per lo più trisettati, 30-43 X 3-4 micron (Fig. 7).

Questi *sporodochî* sono in perfetta continuazione col micelio interno alla pianta ospite, e quindi rappresentano dello stesso fungo un altro tipo di apparato conidifero.

Il *micelio azzurro*, che si osserva qua e là sulle parti disseccate della pianta ammalata, è costituito da ife vegetative, più o meno superficiali, dello stesso fungo, che da ialine sono diventate a poco

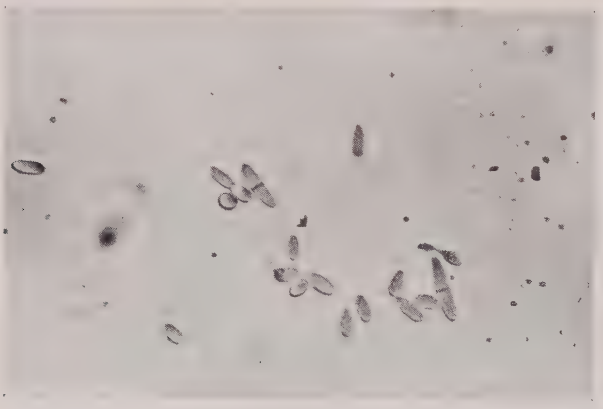


Fig. 5. — *Fusarium moniliforme* Sheld. Microconidî, X 820.

a poco di un bel bleu. Un tale micelio rappresenta probabilmente i punti dove si formeranno sclerozi o periteci azzurri. Esso mostra infatti numerosi noduli sferoidali, larghi poche diecine di

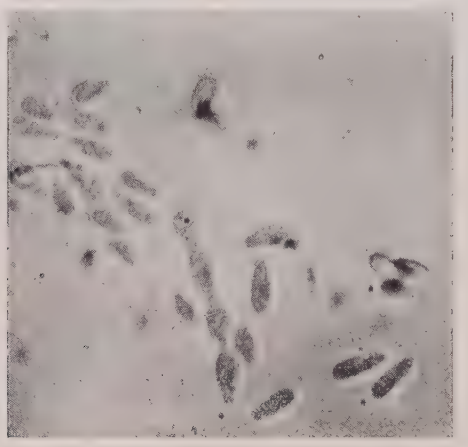


Fig. 6. — *Fusarium moniliforme* Sheld. Microconidî, X 1120.

micron, del colore sopra detto, che non possono essere che abbozzi di sclerozi o di periteci.

Il *micelio interno alla pianta* è costituito da ife vegetative ialine, lisce, settate, ramificate, inter ed intracellulari, larghe 2-5 micron.

Se poniamo sopra terreno Pollacci o sopra terreno carota sterili, contenuti in una comune provetta, un frammento della muffa bianca e, in prove successive, un po' della polvere glomerulare, una piccola parte del micelio azzurro e del micelio interno alla pianta, otteniamo sempre in tutti e quattro i casi lo sviluppo

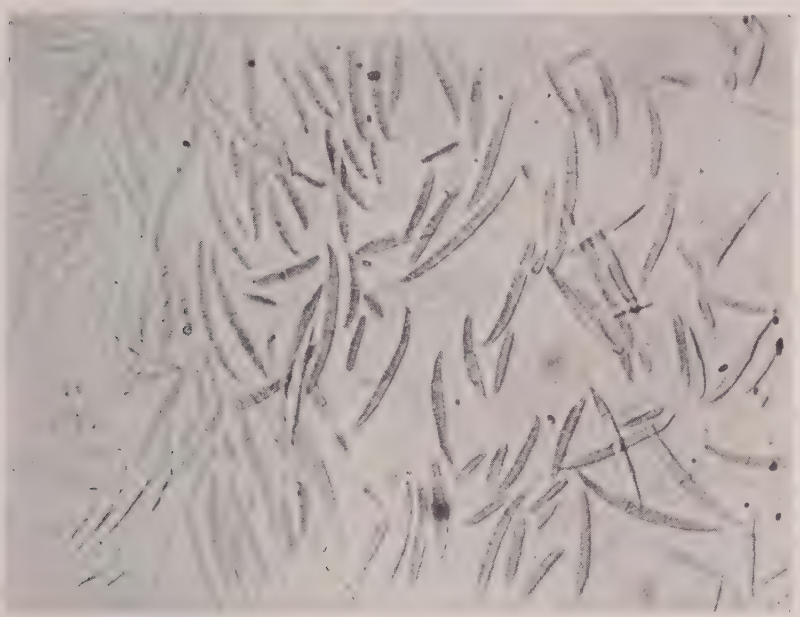


Fig. 7. — *Fusarium moniliforme* Sheld. Macroconidî, X 820.

di uno stesso ed unico fungo, che in queste condizioni appare prima come una muffa bianca, poi rapidamente come una muffa rosea, quindi del colore della terracotta. Dopo diversi giorni la colonia diventa biancastra o bianco-giallastra. Nel micete così coltivato sono presenti i tipi diversi di conidî sopra descritti.

Possiamo dire riepilogando che *piante ammalate di Oryza sativa L. (var. Giovanni Roncarolo), provenienti da una risaia in buone condizioni colturali, situata in Italia, presso Novara, sono invase nel loro interno da un fungo, che nella sua parte esterna all'ospite presenta micro e macroconidî. I primi sono riuniti in glomeruli o pseudocapolini e in catenelle all'apice del rametto conidi-*

fero, e i secondi in sporodochii. Questi ultimi conidii sono quasi costantemente trisettati. Detto micete è il solo fungo presente sia nelle parti ingiallite, sia in quelle ancora alquanto verdi della pianta ospite. Tutti i tessuti fuorchè gli sclerenchimi sono percorsi dal suo micelio inter ed intracellulare.

L'unico fungo finora conosciuto che presenta i caratteri di quello da me descritto è il *Fusarium moniliforme* Sheld. (*Gibberella Fujikuroi* (Saw.) Wr.), col quale senza dubbio possibile esso si identifica.

Il *Fusarium moniliforme* Sheld. è uno dei *Fusarium* meglio caratterizzati, perchè solo un'altra specie dello stesso genere, il *F. decemcellulare* Brick, presenta con esso l'interessante caratteristica morfologica di avere microconidî uguali disposti in due modi differenti: in glomeruli apicali e in catenelle pure apicali sui conidiofori (1) e questa specie è inconfondibile con la prima per altri caratteri morfologici ben evidenti.

Si può quindi pensare alla prima comparsa in Italia di una malattia dell'*Oryza sativa* L. simile a quella molto nota e diffusa altrove, detta *Bakanae* (2).

RIASSUNTO

L'A. segnala un primo caso in Italia (presso Novara) di fusariosi del Riso (*Oryza sativa* L.) prodotta dal *Fusarium moniliforme* Sheld., che fa ingiallire e poi seccare o marcire il caule e le foglie.

SUMMARIUM

A. palam facit, se omnium primum semel animadvertisse fusariosim *Oryzae sativae* L. in Italia apud Novariam, cuius causam esse *Fusarium moniliforme* Sheld.; quo primum effici, ut caulis et folia flavescant, deinde arefiant aut marcescant.

Pavia, Laboratorio Crittogamico, agosto 1938, XVI.

---

(1) Wollenweber H. W. e Reinking O. A. — *Die Fusarien.* P. Parey, Berlino, 1935.

(2) Seto F. — *Beiträge zur Kenntnis der « Bakanae » Krankheit der Reispflanze.* Mem. Coll. Agr. Kyoto, 36. 1935.

Wollenweber H. W. e Reinking O. A. — *Op. cit.*, pp. 238-243.

R. UNIVERSITÀ DI PAVIA
ISTITUTO BOTANICO « GIOVANNI BRIOSI »
E
LABORATORIO CRITTOGAMICO ITALIANO
DIRETTI
dal Prof. GINO POLLACCI

LO ZOLFO-PROTEINATO DI MERCURIO COME FITOFARMACO AUTARCHICO

Memoria Preliminare dei Professori
GINO POLLACCI - RAFFAELE CIFERRI - MARIO GALLOTTI

La battaglia per l'autarchia sarà condotta inflessibilmente travolgendo qualsiasi palese o larvata resistenza rivelatrice di una mentalità superata.
MUSSOLINI

Data l'esiguità dei giacimenti di rame in Italia, ogni anno, per salvare diversi dei nostri più importanti raccolti agrari, come è purtroppo noto, siamo costretti mandare all'estero diversi milioni di oro per preparare ai nostri agricoltori fitofarmaci a base di rame.

Si giustificano quindi i tentativi che si sono fatti e che continuamente si fanno per risparmiare o per sostituire il rame con qualche altro elemento di origine nazionale, nella preparazione di fitofarmaci.

Su questo argomento noi abbiamo da tempo istituito ricerche di laboratorio accompagnate da esperimenti pratici.

L'elemento base sul quale si sono fissate le nostre ricerche circa la sostituzione del rame e che abbiamo preferito a tutti gli altri è il *Mercurio*. Sia per il grande suo potere parassiticida, sia perchè l'Italia è ora al primo posto nella produzione ed esportazione mondiale di tale elemento (1).

Gli antiparassitari per piante a base di mercurio finora proposti ed usati sono assai numerosi. Elenchiamo la massima parte di essi.

(1) Bull. Mines, Washington, 1938.

Mercurio metallico.

Polvere di Mercurio. — Negli Stati Uniti d'America ha dato buoni risultati nella disinfezione dei semi di frumento, orzo ed avena contro la Gibberella Saubineti (1).

Sali inorganici di Mercurio.

Cloruro mercurico. — È molto usato sia sotto forma di soluzione (immersione o aspersione) che di polvere. Si prevengono le malattie delle patate dovute al Corticium Solani, all'Actinomyces scabies, al Bacterium Solanacearum con immersione dei tuberi da semina in soluzioni acquose di data concentrazione (2).

I semi dei cereali sono facilmente preservati dall'attacco delle spore delle Ustilaginee e dei Fusarium colla loro immersione in soluzioni acquose al 0,1 %.

In America il Bacterium Malvacearum del cotone è combattuto mescolando i semi con polvere di cloruro mercurico in ragione del 20 %.

La Plasmodiophora Brassicae del cavolfiore (3), la Alternaria Solani del pomodoro (4), il Bacterium marginatum dei gladioli (5), la Botrytis cinerea della lattuga (6), il Bacterium pseudozoogleum del tabacco (7), è efficacemente combattuto da questo sale di mercurio.

Il cloruro mercurico unito ad altre sostanze inorganiche dà miscele dotate di elevato potere anticrittogamico.

Cloruro mercurico ed acido cloridrico. — La soluzione di un grammo del cloruro in cinquecento di acqua addizionata dell'1 % di acido cloridrico ha dato buoni risultati nella disinfezione dei tuberi di patata con immersione per tre minuti primi (8); questa soluzione è pure usata contro la Plasmodiophora Brassicae (9).

---

(1) Dickson-Mains — Scab of weat and barley iu U. S. A. - Review of Applied Mycology, (R. A. M.) 9, p. 172.

(2) Wheeler-More — Potato seed treatment test. R. A. M.: 14: p. 118.
Van Der Slikke — Control to Rhizoctonia and scab on potato in Holland. R. A. M., p. 527.

(3) Review of Applied Mycology (R. A. M.); 14, p. 2.

(4) » » » » » p. 535.

(5) » » » » » p. 173.

(6) Brow — On the Botrytis disease of lettuce, with special reference of its control. — J. Pomol — 13: 3: p. 247-259, 1935.

(7) — R. A. M. 15; p. 749, 1936.

(8) Raleigh-Bonde — Seed potato treatment for Rhizoctonia control in Northeastern Maine 1929-1933. Phytopathology, 26: 4, p. 321-343, 1936.

(9) Gibbs — Experiments on disinfection of seed-beds. R. A. M., 12, p. 412-561.

Cloruro mercurico e fluorosilicato di rame. — La soluzione acquosa al 0,1 e 0,02 % ha dato in Francia buoni risultati contro la Tilletia caries e la T. foetens del frumento (1).

Cloruro mercurico e solfato di rame. — Miscuglio usato in Francia contro il fungo del grano; immersioni dei semi per trenta minuti in soluzione al 0,12 % (2).

Cloruro mercurico e cloruro di sodio. — L'uso di una miscela di questi due sali ha dato buoni risultati nella disinfezione dei semi dei cereali.

Cloruro mercurico e Nitrato sodico. — Sia in polvere che in soluzione acquosa ha dato buoni risultati contro il Verticillium albo-atrum del pomodoro (3).

Cloruro mercurico e nitrato potassico. — In Danimarca è usata la seguente soluzione contro il Corticium Solani nei cetrioli: cloruro mercurico gr. 3 o 5, nitrato di potassio gr. 30, il tutto disciolto in 6 litri d'acqua (4).

Cloruro mercurico con sodio bisolfito e talco. — Questa miscela in polvere, ha dato buoni risultati in America contro l'Helminthosporium dell'orzo (spolveramento dei semi) (5).

Bar 3. — Polvere che si ottiene mescolando i seguenti prodotti; cloruro mercurico gr. 8, bicarbonato sodico gr. 6, bisolfito sodico gr. 6, talco gr. 80 (6).

Bar 4 — I suoi costituenti sono: cloruro mercurico gr. 3, bisolfitico sodico gr. 10, talco gr. 87 (7).

Questa polvere e la precedente sono state usate contro l'Helminthosporium gramineum.

Per alcune varietà di orzo il seme è danneggiato; nel processo di disinfezione, da questi preparati per qualità più resistenti invece l'aumento di produzione può variare dal 13,8 al 54 % (8).

---

(1) Arnaud-Gaudineau — Le traitement de la carie du blé. Comptes rend. Acad. d'Agric. de France, 16: 31, p. 1029-1035, 1930.

(2) Guyot — De quelques désinfectants de la semence contro la carie du blé. Rev. Path. Veg. et. Ent. Agric. 15; 8; 249-55; 1928.

(3) Williams — Control of Verticillium on tomato. R. A. M.; 9 p. 70.

(4) Jorgensen — Tests of soil disinfectants in Denmark. R. A. M., p. 12 p. 709.

(5) Annual Report of the Iowa Agricultural Exp. Stat. fiscal year ending June 30, 1928; p. 64, 1928.

(6) Reddy-Burnett: Development of seed treatments for the control of barley stripe. Phytopath. 20, 5, p. 337-390, 1930.

(7) (8) id. id.

Calo-Clor. — È così chiamata la miscela di un terzo di cloruro mercurico con due terzi di cloruro mercuroso usata con buoni risultati contro il Corticium dei prati, il Fusarium dei narcisi, ecc. (1).

Mycothanaton — È una soluzione usata in Francia per preservare il legno dall'attacco del Merulius lacrimans; si ottiene facilmente disciogliendo in 57 litri di acqua, gr. 16 di cloruro mercurico, gr. 750 di cloruro di calcio, gr. 1500 di solfato sodico e due litri di acido cloridrico commerciale (2).

Cloruro mercuroso. — In Germania la soluzione colloidale al 0,002 % ha dato buoni risultati contro l'Aspergillus niger. Sia solo, in polvere, che con ossido giallo di mercurio è usato alla dose di 10 libbre per acre contro l'Actinomyces scabies ed il Corticium Solani nelle patate (3). L'azione fungicida del calomelano, sale insolubile in acqua, è dovuta alla trasformazione in cloruro mercurico solubile per un processo di ossidazione (4).

Joduro mercurico. — Sperimentalmente in Francia ha dato buoni risultati contro il fungo del frumento e contro il Corticium Solani dei tuberi di patate per immersione in soluzioni al 0,25 %. La sua aggiunta ad altri anticrittogamici aumenta di molto l'effetto di questi ultimi; il carbonato di rame con 7 % di ioduro mercurico, il tutto ridottto in polvere finissima, controlla facilmente l'Ustilago Avenae (5). Negli Stati Uniti d'America la soluzione al 0,05 % di ioduro di mercurio con il 0,1 % di ioduro di potassio, immersione da 1 a 4 ore, ha dato buon esito contro il Phoma Lingam e il Pseudomonas campestris delle Crucifere (6).

Ossido giallo di mercurio. — Soddisfacente controllo dell'Actinomyces scabies nelle patate è stato ottenuto addizionando al fertilizzante dell'ossido giallo di mercurio alla dose di 4 o 6 libbre per tonnellata di tuberi (7).

(1) Forty — Annual Report Rhode Island State College Agr. Exp. Station. R. A. M., 14, p. 562; 1935.

Miles — Plant diseases Work in Mississipi in 1931. R. A. M. II, p. 699, 1932.

(2) Fron — Au sujet du Merulius lacrimans ou champignos des maison. Journal d'Agric. Prat. N. S. 14, 4, p. 300, 1931.

(3) R. A. M. (Review of Applied Mycology), 15; p. 282-83, 1936.

(4) Petit — Observation sur la carie du blé, Ann. du Service Bot. de Tunisie, 6, p. 101-103, 1931.

(5) Petit — Le traitement des cariopses des céréales id. id. II, p. 267-72 1935.

(6) R. A. M., 4 p. 459, 1925.

(7) Cunningam — Control of potato scab in U. S. A. R. A. M. 15, p. 603, 1936.

Spolverando le patate da semina con polvere di ossido giallo di mercurio si combatte effettivamente il Corticium solani, ma in alcuni casi si è danneggiata la superficie tagliata dal tubero (1).

Bar 1. — È costituito da un miscuglio essiccato e polverizzato di ossido giallo di mercurio (ottenuto dall'azione di qualità sufficiente di idrato sodico su di una soluzione acquosa di gr. 2,7 di cloruro mercurico), di bisolfito sodico gr. 2, talco gr. 22,3. Ha le stesse proprietà anticrittogamiche del Bar 3.

Mercurio idrossido. — È stato usato negli Stati Uniti d'America contro il Fusarium oxysporum nelle patate dolci (2).

Mercurio ammonio silicato. — Si ottiene versando una soluzione di cloruro di mercurio in una miscela di idrossido di ammonio e di silicato di sodio.

Ha dato buoni risultati contro il Bacterium marginatum e il Penicillium nei Gladioli (usato per immersione). La sua azione è uguale a quella ottenuta per immersione per 7 ore in una soluzione di cloruro mercurico all'1 per mille (3).

Fungolit o Hohenheimer Beize. — È una polvere rosso-bruna con odore forte di acido cloridrico a reazione acida; sciolta in acqua lascia un residuo di farina fossile. La colorazione è attribuita alla presenza di solfocianuro di ferro e può essere tolta con etere. Dall'analisi risulta che contiene: solfocianuro di ferro 17,8 %, cloruro ferrico 29,5 %, mercurio 7,7 %; farina fossile 27 % saturata con acido cloridrico; è presente anche il potassio sotto forma di cloruro. L'efficacia della preparazione è dovuta alla presenza dei sali di mercurio, presumibilmente di cloruro mercurico (4). I valori fitobiologici sono i seguenti: d. c. 0,15; d. t. 0,4; c. t. 0,38; B. 2. Ha dato ottimi risultati contro la Tilletia tritici e levisa, l'Ustilago nuda, il Calonotrix graminicola del riso, avena, orzo, frumento (5), In Germania è usato contro la Rhizoctonia Solani, immersione dei tuberi in soluzione al 0,25 % per 20 minuti primi (6).

---

(1) Raleigh-Bonde — Control of Corticium Solani in potatoes in U. S. A. R. A. M. 15, p. 602, 1936.

(2) Cunningam — Control of potato scab in U. S. A. R A. M. 15, p. 603, 1936.

(3) White — Mercury ammonium silicate as a gladiolus corms treatment. Phytopath., 24-10 p 1122-24, 1934.

(4) Gabel — Beitraege zur Zusammensetzung von Saatgutbeizen. Zeitschr. fuer Angew. Chemie; 36-75, p. 590, 1932.

Esdorn — Die chemoterapeutische Prüfung der Beizmittel Kalimat und Fungulit — Angew. Bot. 6: 2, p. 105-112, 1924.

(5) Neuweiler — Plant disease Work in Oerliken in 1920 - R. A. M. p. 590, 1925.

(6) R. A. M. (Review of Applied Mycology) 3, p. 637; 1924.

Sali inorganici di mercurio aggiunti di sostanze organiche.

Fusafine. — Risulta costituito da una miscela di un azocolorante con cloruro mercurico, solfato di sodio e cloruro di sodio. Fu il primo prodotto di questo tipo usato in Germania per la disinfezione dei semi. Contiene circa il 20 % di cloruro mercurico. Oggi è completamente caduto in disuso (1).

Cloruro mercurico e aldeideformica. — Contro l'Ustilago Avenae viene usata con buoni risultati la seguente soluzione; cloruro mercurico gr. 100, aldeide formica al 4 % gr. 250, il tutto disciolto in 100 litri di acqua (2). Buon risultato contro la fusariosi dell'avena si ha con immersione dei semi per 20 minuti primi in una soluzione al 0,1 % di cloruro mercurico e 0,1 di comune aldeide formica.

Fideol. — È un miscuglio di cloruro mercurico, formaldeide, alcool ed altre sostanze, messo in commercio da una fabbrica Italiana. Tutti i semi dei cereali immersi in una soluzione al 0,2-0,5 % per un tempo da 7 a 15 minuti primi sono disinfettati senza che alcun danno venga recato alla loro capacità germinitiva (3).

P. I. C. — È il simbolo di una polvere ottenuta come segue: gr. 10 di cloruro mercurico e cc. 5 di cresolo bene mescolati in mortaio, vengono aggiunti di quantità sufficiente di soluzione di idrato sodico sino ad ottenere una densa massa gialla: al tutto viene aggiunta una miscela di solfato di rame e di talco in polvere: si essica e si polverizza. Ha una azione anticrittogamica analoga a quella del Bar 4 (4).

Sali inorganici di mercurio aggiunti di mezzi penetranti.

L'aggiunta di alcool etilico a soluzioni acquose di cloruro mercurico e di altri suoi sali facilita la penetrazione del prodotto fungicida nell'interno del seme con conseguente aumento della tossicità; è quindi necessario diminuire la dose del medicamento.

Ultimamente è stato proposto di aggiungere a questo scopo i

(1) Jahresber. der preussischen landrwirtsch. Versuche und Forschungsanstalten in Landsberg a. Wiahrgange. — Landw. jahrb. 9-3, p. 335-416; 1924.

(2) Gram — Control of seed-borne disease of cereals in Denmark. R. A. M.: II; p. 162, 1932

(3) Pasinetti — Contributo allo studio delle sostanze anticrittogamiche. Riv. Pat. Veg.; 19, 9-10, p. 193-214, 1929.

(4) Reddy-Burnett — Dèvelopment of seed treatments for the control of barley stripe. Phytopath., 20, 5, p. 337-390, 1930.

sali di rame dell'acido solfonico dell'isopropilnaftalina, avendo i sali dei derivati solfonici di naftalina arilata od alchilata nel nucleo ottime proprietà penetranti (1).

Anticrittogamici organici a base di mercurio.

Quasi tutti i prodotti organici di mercurio usati come fitofarmaci si possono ricondurre alla seguente formula generale:

$$R — Hg — X$$

dove R rappresenta un residuo alifatico o aromatico, X un radicale acido o l'ossidrile. Quando un gruppo alchilico entra nella molecola di un alogeno derivato del mercurio si ottiene un complesso semi-organico la cui azione tossica è inferiore a quella del sale inorganico, ma ancora sufficiente a danneggiare il seme.

La tossicità del prodotto diminuisce coll'aumentare del peso molecolare di R; es. $C_2 H_5 — Hg — I$ è meno tossico di $CH_3 — Hg — I$. Analogamente avviene quando R è un residuo aromatico, fenil. tolil. ecc.

Quanto al cambiamento di X, la serie con R uguale a $C_6 H_5$ ha dato composti di varia solubilità costituenti una serie di prodotti ad azione specifica contro le comuni malattie del grano (2) (3).

In questi fitofarmaci, contenenti mercurio sotto forma organica, il sale organico di mercurio è quasi sempre mescolato con quantità assai elevate di sostanze inerti.

Sali organici alifatici di mercurio.

Cianuro mercurico. — Può essere considerato il più semplice composto organico di mercurio. È stato usato contro alcune malattie dei cereali ma con scarsi risultati.

Acetato di mercurio. — Si comporta analogamente al cianuro. Colla cloronaftalina entra come costituente di un preservativo della pasta di legno, usato in Scandinavia (4).

(1) Casaburi V. — I sali di mercurio per la disinfezione delle sementi. id. id. Industria Chimica; p. 1151 : 10, 1930 — 1362 : 11 — 1475 : 12.

(2) Dillon-Weston — Chemical constitution in relation to toxicity of seed desinfectants. J. Agric. Sci. 25, 4, p. 628-649, 1935.

(3) Casaburi V. — I sali di mercurio per la disinfezione delle sementi. Industr. chimica. p. 1251, 10, 1930, p. 1362, 11, 1930, p. 1475, 12, 1930.

(4) Schmid — Bleing of pulpwood and its control in Scandinavia, R. A. M. 15 p. 261, 1936.

Du Bay 635. — E' una polvere costituita di etil-mercurio in ragione del 2% e da altre sostanze inerti. Negli U. S. A. ha dato buoni risultati della disinfezione dei semi di avena e di frumento (1).

Etil-mercurio-fosfato. — E' usato contro la Cercospora beticola delle barbabietole, il Pythium de Baryanum del pomodoro, il Corticium Solani della lattuca (2).

Du Bay 1134. — Polvere che contiene il 2,5% di etil-mercurio-fosfato e il 70,5% di sostanze inerti. Ha gli stessi usi del Du Bay 635 (2).

Du Bay T. 38.: Du Bay T. 986. — Contengono etil-mercurio-fosfato in ragione del 2%. Si sono usati nella disinfezione dei semi dei cereali e degli ortaggi (2).

Etil-mercurio-arseniato. — E' stato usato in America contro il Godronia Cassandre (3); è il principale costituente del:

Du Bay 500 LL. — Contiene in ragione dell'1% di mercurio; è usato nella disinfezione dei semi di avena alla dose di un'oncia per staio (4).

Du Bay 952 C. — Il costituente attivo di questa preparazione dotata di elevato potere anticrittogamico è l'etil-mercurio-tartrato in ragione dell'1%. Ha gli stessi usi del precedente (4).

Etil-mercurio-cloruro. — Ha dato buoni risultati contro il Bacterium pruni delle pesche e il Phoma Pomi nelle mele; la soluzione acquosa deve essere spruzzata sulle piante in ottobre e in giugno; si usa la soluzione che contiene una libbra di medicamento in cinque galloni di acqua (5).

Granosan o Ceresan Americano. — Contiene il 2% di etil-mercurio-cloruro mescolato a sostanze inerti (6): è usato nella disinfezione dei semi di cotone contro il Corticium ed in quella

(1) Mundie-Frutchey — Control of wheat bunt in U. S. A. - R. A. M. 15. p. 271, 1936.

(2) Townsed-Newhall — The control of bottom rot of lettuce. Cornell Agr. Exp. Sat. Bull. 535, p. II, 1932.

(3) Bergam-Vilcx — Cranberry rots and ther control in U. S. A.-R. A. M. 15, p. 817, 1936.

(4) Young-Maclelland — Control of wheat smuts in U. S. A.-R. A. M. 13, p. 157, 1934.

(5) Manns-Adams — Plant disease work in Delaware in 1929, R. A. M. 10, p. 225, 1931.

(6) Buddin — Phoma lingam on swedes in Great Britain, R. A. M. 13, p. 487-934.

dei semi dei cereali contro l'Urocystis occulta, l'Ustilago Avenae, ecc. (1).

Lignasan. — È così chiamata la soluzione ottenuta disciogliendo mezza libbra di polvere di etil-mercurio-cloruro in 20 galloni di acqua calda. Contiene il 0,43 % di etil-mercurio-cloruro (2).

L. E. 3. — Preparazione che contiene il 0,24 % di etil-mercurio-oleato (3).

Questo prodotto e il precedente sono usati rispettivamente alla concetrazione del 0,1 e del 25 % come preservativi contro i funghi del legno.

Sali organici aromatici di mercurio.

Salicilato di mercurio. — In polvere alla dose di un gr. per cento, preserva i semi dei cereali dall'attacco delle malattie più comuni. L'azione funghicida è dovuta sia al catione che all'anione (4).

Mercuriato di anilina. — Immergendo i semi di cavolfiore per 25 minuti primi in una soluzione acquosa all'1 % si impedisce efficacemente lo sviluppo del Bacterium maculicola (5). Il Fusarium avenaceum è facilmente conmbattuto da questo prodotto (6).

Resinato di mercurio. — Ottimi risultati contro il Bacterium Malvacearum del cotone si sono ottenuti negli U. S. A. spolverandone i semi (7).

Ceresan. — La sua azione anticrittogamica è dovuta al fenil-mercurioacetato (8).

---

(1) R. A. M., 15, p. 18 e 285, 1936.

(2) Cummins — Control of blue stain on stacked pine boards in Australia. R. A. M., 13, 1, 1934.

(3) Chapman-Scheffer — Control of sap stain and mould on timber in U. S. A. R. A. M. 12; p. 668, 1933.

(4) Herman-Neiger — Effects of salicylic acid and ite compounds on wheat germination. R. A. M., 14, p. 228, 1935.

(5) Zhavoronkova — R. A. M. 15, p. 696, 1936.

(6) Kholdnyuk — Control of Fusarium wheat seedling blight in U. S. A.- R. A. M. 15, p. 640, 1936.

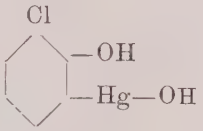
(7) Woodrof — Treating cotton seed by dusting method. Georgia Exper. Stat. Bull. 170, p. 16, 1931.

(8) Martin — Developpements in the chemistry of fungicides used on farm crops. Agric. Prog., 13, p. 106-112, 1936.

Si impedisce lo sviluppo delle spore del Corticium Solani, aderenti ai semi del cotone, mescolando un quintale di questi con gr. 400 di disinfettante (1). Il Ceresan combatte validamente i diversi funghi che danneggiano il tabacco (2), i cereali (3), il pomodoro (4), il lino (5).

Agrosan G. — E' una polvere costituita da tolil-mercurio-acetato e da sostanze inerti (6). E' usato alla dose di due once per staio di semi nella disinfezione dei semi dei cereali (7).

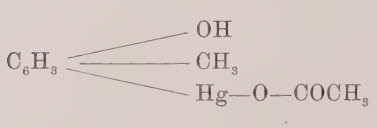
Uspulum (o Upsulum). — Polvere azzurra che odora fortemente di fenolo; il principio attivo è l'idrato di orto-cloro-fenol-mercurio a cui spetta la seguente formula di struttura:

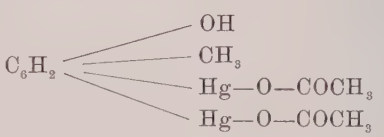


mescolato con sale comune fino ad un tenore di mercurio del 17,4 %.

La soluzione acquosa al 2 per mille è dannosa ad alcuni semi (8) ma generalmente non lo è; spesso anzi è stimolante (9).

Cerere. — Preparato dal Laboratorio Chimico Farmaceutico di Parma, da E. ed A. Mameli. I suoi costituenti sono il mono e il diacetato di cresol-mercurio





è stato usato nella concia umida dei semi di frumento, orzo, segale, avena, la soluzione acquosa al 0,26 % con immersione da 1 a 2 ore.

---

(1) Gabel-Ueber — The use of mercury for the disinfection of seed. Zeitschr. für angew. Chem. 34, p. 578-88, 1921.

(2) Radv — Cotton disease in Perù R. A. M., 15, p. 18, 1936.

(3) Bening — Control of tabacco wildfire in Germany. R. A. M. 15, p. 61. 936. R. A. M. 15, p. 13, 347, 289, 86, 1939.

(5) R. A. M. 15, p. 539, 1936.

(6) Flor — Flak seed disinfection tests in U. S. A.-R. A. M. 15, p. 652 1936.

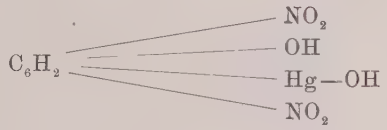
(7) Martin — Developpements in the chemistry of fungicides used on farm crop. Agric. Prog., 13, p. 105-112, 1936.

(8) Neil — Experiments with two organic-mercury seed dusts. N. Z. J. Agric. 12, p. 231-232, 1936.

(9) Su questo prodotto esiste una vastissima letteratura che non è possibile riassumere qui.

Esercita pure azione tossica contro i parassiti del terreno (anguillule) senza danneggiare le piante.

Tillantin C. — I costituenti di questa polvere anticrittogamica sono: idrato di dinitro-fenol-mercurio 4 %



disolfoaminonaftolo 3 % e silicato di magnesio.

E' stato usato in Danimarca contro i funghi parassiti dei cereali con buoni risultati (1).

Mercuriol. — E' idrato di clorofenolmercurio preparato dalla Soc. Rus di Milano. Ha proprietà e costituzione identiche allo Uspulum.

Germisan. — A base di un sale sodico di mercuriocianocresolo.

Polvere Bayer. — E' un miscuglio di ossi-mercurio-cloro-fenolsolfato 6 % e di ossi-mercurio-nitro-fenolsolfato 2 % e sostanze inerti.

Combatte efficacemente il Monilochaetes infuscans delle patate (2) l'Ustilago Crameri del miglio (3), l'Actinomyces scabies delle patate, ecc. (4).

Fenato di mercurio. — I costituenti attivi sono gli idrati di orto- e para-ossi-benzene-mercurio (5). Ha dato risultati promettenti contro l'Helminthosporium Avenae dell'avena.

Sale di concia n. 1. — E' il sale di mercurio degli acidi metilen-dinaftol-solfonici; liquido di densità 6° Bé a 8° C.; di pH uguale a 3. Contiene il 17 % di mercurio. Può essere usato allo stato liquido opportunamente diluito o si può impastare con talco onde servirsene per la concia a secco (6).

Sale di concia n. 2. — E' il sale di mercurio degli acidi ligno-

---

(1) R. A. M. (Rev. Applied of Mycology) 7, p. 153 e 590.

(2) R. A. M. 7, p. 344.

(3) R. A. M. 7, p. 237.

(4) Dickson-Mains — Scab of weat, barley in U. S. A-R. A. M. 9 p. 172.

(5) Dillon-Weston — Chemical costitution in relation to toxicity of seed disinfections. J. Agric. Sci. 25; 4, p. 628-649, 1935.

(6) Casaburi V. — I sali di mercurio per la disinfezione delle sementi; Industria Chimica p. 1251, 10, 1930; id. p. 1362, 1930; id. p. 1475, 12, 1930.

metilen-dinaftol-solfonici: liquido con pH uguale a 3,2; contiene mercurio in ragione del 13,3 % (1).

Sull'azione di questi due preparati è riportato quanto sta scritto a pag. 1482 della « Industria Chimica » del 1930: — « Dal punto di vista della disinfezione delle sementi il sale di concia n. 1 e il sale di concia n. 2, che agiscono in mezzo acido, per prove eseguite da laboratori fitopatologici autorizzati, sono risultati sinora ampiamente sufficienti e possono sostenere il confronto con lo Uspulum ».

Uni-Dea. — Contiene sali di mercurio, rame, ferro, e degli acidi metilen-dinaftol-solfonici. Il miscuglio di questi sali, che si trovano allo stato complesso, fatto assorbire da adatti eccipienti e finemente triturato da una polvere che si attacca al seme come una cipria e rimane aderente ad esso durante la germinazione e l'accrescimento. L'esperienza ha dimostrato che il trattamento « Uni-Dea » del grano forma piante con radici più forti, steli più robusti, spighe piene e grano più resistente all'attacco della ruggine. In diverse parti d'Italia ha dato aumento di produzione del 15 %: si ha un grano di maggior peso per ettolitro e con maggior contenuto di glutine (1).

Composti di costituzione non ancora precisamente resa nota.

Hagenol. — E' un prodotto che risulta dalla mescolanza di un composto organico di mercurio non identificato con polvere di formalina (preparata da comune formalina e stearato sodico (2)).

Heiden polvere. — E' costituita da un composto di mercurio e e da carbonato di rame.

Saatbeize P. 237. — Contiene il 15% di mercurio, carbonato di rame ed arsenico.

Segetan I°. — Contiene mercurio e sali cuproammonici di acidi organici ed inorganici.

---

(1) Casaburi V. — I sali di mercurio per la disinfezione delle sementi. Industria Chimica p. 1251, 10, 1930
» » » 1362, 11, »
» » » 1475, 12, »

(2) Blunck — Toxicity of seed disinfectant dusts to Bacillus subtilis and seed grain. R. A. M. 8, p. 299, 1929.

Tutan : Agfa : Semesan : Abavit V : Betanal : Merthiolate : Mercutox.

Tutti questi prodotti contenenti mercurio sono usati nella disinfezione dei semi dei cereali, ortaggi, ecc.

Solfoproteinato di Mercurio.

Il *Solfoproteinato di mercurio* è il nuovo farmaco polivalente che noi proponiamo in sostituzione di quelli finora usati per combattere l'oidio e tutti i miceti contro i quali viene adoperato lo zolfo, contro la peronospora e tutti i miceti contro i quali si usano i sali di rame e contro insetti parassiti come gli acari e la tignola dell'uva per i quali si usano comunemente gli arseniati, i composti di nicotina, ecc.

Per la preparazione del nuovo fitofarmaco occorrono: caseina, solfo, idrato sodico e cloruro di mercurio.

La caseina, prodotto prettamente nazionale, è un potente adesivo del farmaco che trattiene la miscela adesa ai tessuti vegetali in modo insuperabile. Anche dopo forti venti, abbondanti e prolungate piogge, noi vediamo il fitofarmaco conservato ed attaccato alle foglie, ai fusti ed ai frutti per tutta la stagione estiva, come nei primi giorni di applicazione. Il composto di mercurio oltre ad impedire alla caseina di putrefare è un parassiticida potentissimo tanto per i miceti quanto per gli insetti; lo zolfo oltre che come parassita specie contro lo oidio serve anche per segnalare la distribuzione e la localizzazione del farmaco.

Nella preparazione di questo composto si ha, per azione di idrato sodico a caldo sulla caseina, la formazione di anidroprotalbinato ed anidrolisalbinato di sodio. Questi due composti si possono separare ed anche purificare.

Aggiungendo opportunamente cloruro mercurico disciolto in acqua e solfo precipitato a questi composti, si ottiene il nostro fitofarmaco che è un solfoproteinato di mercurio.

Il prodotto ottenuto può essere usato tal quale in pasta come viene dalla reazione, ma può essere anche asciugato nel vuoto alla temperatura di 50-60° senza subire alterazioni.

Si ottiene un prodotto che, macinato molto finemente, si disperde di nuovo completamente nell'acqua fredda fornendo pseudo soluzioni aventi tutte le identiche proprietà del prodotto in pasta.

I vantaggi dell'uso del prodotto allo stato secco sono grandi:

Conservabilità illimitata del prodotto, praticità ed economia realizzata nel trasporto di prodotti secchi a forte concentrazione nei confronti di paste contenenti notevoli quantità di acqua.

Economia non indifferente nel costo dell'involucro atto a contenere il fitofarmaco allo stato secco: l'involucro può essere semplicemente di cartone fornendo la possibilità di confezionare il prodotto anche per dosi di pochi litri di soluzione.

Praticità inoltre della preparazione delle soluzioni da irrorare.

Sperimentazione.

Oidio. — Con questo nostro solfoproteinato di mercurio abbiamo trattato piante di rose attaccate fortemente dall'*Oidium leucoconium* coltivate numerose nell'Orto Botanico della R. Università di Pavia. Anche dopo la prima irrorazione si è osservato subito un arresto allo sviluppo dell'oidio; dopo un secondo trattamento, fatto a distanza di 15 giorni, il micete è scomparso. Piante tenute per testimonio (non trattate), si sono in poco tempo tutte infettate ed hanno perso le foglie. Le parti nuove dei rami giovani formatisi dopo i trattamenti si mostravano attaccati fortemente da oidio, mentre le parti vecchie trattate, rimanevano perfettamente immuni. I risultati avuti hanno dimostrato in modo indubbio che il rimedio è efficacissimo contro l'infezione dell'oidio delle rose.

Filari di viti nell'Oltrepò pavese e precisamente in Canneto Pavese, di proprietà del Sig. Ing. Zucchini e numerosi altri a Soriasco, sopra Santa Maria della Versa, di proprietà dei fratelli Faravelli, trattati con il nostro solfoproteinato di mercurio hanno pure dimostrato che tale fitofarmaco è pure efficace per l'*Oidium Tukeri* della vite. Gli stessi risultati si sono avuti trattando alcune viti nel terreno sperimentale dell'Orto Botanico dell'Università di Pavia e viti a pergolato di Casa annessa all'Istituto.

Detto fitofarmaco è risultato efficacissimo in modo palese ed indubbio contro l'oidio della vite, e questo è facile a spiegarsi conoscendo ormai da tanti anni l'efficacia dello zolfo contro tale genere di fungo. Nel nostro farmaco lo zolfo ha il grande vantaggio di rimanere adeso in modo insuperabile, con grande economia nei trattamenti.

Peronospora. — Gli stessi vigneti dei frat. Faravelli, che hanno servito per la sperimentazione in grande del solfo proteinato di mercurio contro l'oidio della vite, hanno servito pure per studiare l'efficacia di tale fitofarmaco contro la *Plasmopara viticola*. Il Sig. Cesare Faravelli, comproprietario dell'Azienda Agricola Fratelli Faravelli di Soriasco, esimio viticultore ed orticultore, a proposito di tali esperimenti ha a noi scritto « .... *Il Proteinato di mercurio ha dato ottimo risultato contro la peronospora delle viti, contro il*

Fusicladium dei meli e contro il verme dei meli ». (S. Maria della Versa, 20 Sett. 1938-XVI).

Nei nostri sopraluoghi abbiamo infatti potuto constatare che le conclusioni del Sig. Cesare Faravelli erano perfettamente fondate. Le viti lasciate senza trattamento erano attaccate dalla peronospora che quest'anno si è palesata solo in ritardo ma in agosto in modo ben manifesto; le trattate avevano tutti i pampini sani ed ammalate erano sole le estremità con foglie tenere che si erano sviluppate dopo i trattamenti. Nessun dubbio quindi si è avuto sull'efficacia del nostro fitofarmaco. Le osservazioni fatte sulle viti dell'Orto Botanico e sul pergolato della casa annessa all'Istituto Botanico hanno confermato pienamente quelle fatte in grande nei vigneti dei Fratelli Faravelli.

La conclusione che se ne ricava dimostra sempre più che il mercurio può sostituire il rame nella lotta contro la Peronospora.

Fusicladium. — Numerose piante di meli in filari sono state trattate col nostro nuovo fitofarmaco ed esso si è dimostrato efficacissimo contro il parassita *Fusicladium (Venturia inaequalis)*.

Acari. — Nell'Orto Botanico numerosi rosai con apici vegetativi ricoperti di acari furono trattati col solfoproteinato di mercurio e subito tali parassiti sono stati uccisi e non sono ricomparsi.

Tignola dell'uva — Nell'Oltrepò pavese tale insetto produce ogni anno danni fortissimi; i trattamenti fatti col nostro fitofarmaco hanno dimostrato che pure contro questo dannosissimo parassita esso è efficacissimo.

Le esperienze fatte sulle viti del pergolato della casa annessa all'Istituto Botanico hanno confermato quanto si era potuto constatare nei vigneti dell'Oltrepò pavese.

Vermi dei meli — Risultati buoni si sono avuti trattando i meli con lo solfoproteinato di mercurio.

Queste esperienze sono state fatte dal Sig. Cesare Faravelli nei suoi frutteti a Soriasco ed Egli ha concluso che il nostro fitofarmaco ha dato ottimo risultato anche contro i vermi dei meli (Vedi lettera riportata sopra).

Tossicità del fitofarmaco — Il Prof. Caserio, aiuto presso il R. Istituto d'Igiene della R. Università di Pavia, diretto dal Prof. Ernesto Bertarelli, ha ricercato la tossicità del nuovo nostro fitofarmaco sopra animali di Laboratorio; i risultati sono così riassunti dallo stesso Prof. Caserio.

« Oggi (7 novembre 1938) ho concluso le ricerche sulla tossicità del proteinato di mercurio preparato dai Proff. Pollacci, Gallotti e Ciferri, come fitofarmaco. Hanno servito come animali da

esperimento conigli maturi, a due lotti dei quali sono stati somministrati, pro die e per un periodo di 15 giorni, rispettivamente cc. 20 e cc. 10 del proteinato, volta a volta ben emulsionato mediante energica agitazione.

Durante le ricerche e a prove ultimate non è stato possibile osservare manifestazioni esteriori atte a far pensare che si siano verificati fenomeni di intossicazione. Nel lotto secondo, al quale è stata somministrata la dose più elevata, in totale cc. 300 per un solo coniglio si è riscontrata una lieve diminuzione di peso.

L'autopsia degli animali ha permesso di rilevare che non si sono verificate lesioni interne degne di rilievo.

Si può quindi concludere che il proteinato di mercurio preparato dai Proff. Pollacci, Ciferri e Gallotti è una sostanza scarsamente tossica che può essere maneggiata da chiunque con le stesse norme che è consuetudine seguire nell'uso delle comuni sostanze anticrittogamiche.

La scarsa tossicità del proteinato di mercurio è verosimilmente poi da ricondursi alla particolare stabilità della sostanza, poco o affatto attaccabile dall'acido cloridrico del succo gastrico ».

Uva ricoperta da solfoproteinato di Mercurio, da noi prelevata da vigneti dei Fratelli Faravelli di S. Maria della Versa, pigiata, ha dato mosto che è fermentato regolarmente.

A questo mosto avevamo aggiunto piccola quantità di trucioli di rame per garantire la completa assenza di mercurio nel vino e difatti sottoposto tale vino ad analisi, si è riscontrato l'assenza assoluta, in esso, di mercurio.

I caratteri organolettici del vino sono rimasti inalterati.

Ripetute ricerche fatte da noi nel succo di acini di uva trattati con il solfoproteinato di mercurio hanno dimostrato che esso non penetra entro l'endocarpo dell'acino dell'uva e gli stessi risultati li abbiamo ottenuti esperimentando su mele e pere preventivamente trattati collo stesso fitofarmaco.

Per l'uva da tavola e per la frutta in genere, l'applicazione del solfoproteinato di mercurio naturalmente deve essere disciplinata come è disciplinato l'uso degli insetticidi a base di nicotina e di arseniati, ma esso non presenta maggiori pericoli di questi.

Conclusioni.

Le conclusioni che si possono ricavare da tutte tali prove sperimentali pratiche e di laboratorio fatte alcune in grande sono le seguenti :

1) Il *Solfoproteinato di Mercurio* può sostituire lo zolfo contro l'Oidio della vite, della rosa ecc.

2) Il *Solfoproteinato di Mercurio* può sostituire il solfato di rame nella lotta contro la peronospora delle viti e quindi presumibilmente contro tutte le peronospore delle piante utili e coltivate.

3) Il *Solfoproteinato di Mercurio* può sostituire gli insetticidi a base di nicotina, di arseniati, etc., nella lotta contro insetti dannosi alle piante.

4) Il *Solfoproteinato di Mercurio* fa risparmiare diversi e costosi trattamenti alle colture perchè essendo esso polivalente, ossia essendo efficace tanto contro i funghi parassiti, quanto contro diversi insetti parassiti, non sono necessari i trattamenti per i parassiti animali in aggiunta a quelli per i parassiti vegetali. Risparmio quindi sulla spesa della mano d'opera, ridotta alla metà.

5) Il *Solfoproteinato di Mercurio* in grazia della caseina che entra nella sua composizione, e che non si altera per la presenza di mercurio, assume una tale adesività ai tessuti vegetali sui quali si applica che le foglie, i rami ed i frutti trattati con tale fitofarmaco rimangono chiazzati dal fitofarmaco fino a che rimangono attaccati alla pianta, anche dopo temporali e piogge persistenti. Tale adesività mentre assicura all'organo trattato la costante azione preservatrice del farmaco, fa risparmiare all'agricoltura diversi trattamenti che con gli altri fitofarmaci meno adesivi si è costretti di fare. Il risparmio è molto sensibile.

6) Il *Solfoproteinato di Mercurio* non è caustico per le piante e se anche l'agricoltore si sbaglia nelle percentuali, il male che può derivarne è minimo e trascurabile.

7) Il *Solfoproteinato di Mercurio* è tossico perchè contiene del mercurio, come del resto è velenoso il solfato di rame di uso comune. E' vero che il mercurio è più velenoso del rame a dose eguale, ma bisogna anche considerare che il rame si applica nella proporzione minima del 0,25 % (corrispondente all'1 per cento di solfato di rame), mentre il mercurio entra nel nostro solfoproteinato di mercurio nella percentuale massima del 0,073 per cento (corrispondente all'1 per mille di cloruro di mercurio), ossia percentuale 34,24 volte inferiore rispetto ai metalli e di un decimo rispetto ai sali.

8) Il *Solfoproteinato di Mercurio* non penetra nell'endocarpo dell'acino di uva e neppure in quello di altre frutta, come mele e pere; rimane quindi solo aderente al tegumento e non penetra nell'interno del frutto. Ricerche eseguite da noi hanno ripetutamente dimostrato che nel succo degli acini di uva trattati con proteinato di Hg non è contenuto mercurio.

9) Mosto ottenuto da uva ricoperta da solfoproteinato di mercurio con l'aggiunta di tenuissima quantità di trucioli di rame, fermenta normalmente. Il vino risultante non cambia i propri caratteri organolettici e si dimostra esente da mercurio.

10) Il *Solfoproteinato di Mercurio* è una sostanza scarsamente tossica che può essere maneggiata da chiunque con le stesse norme che è consuetudine seguire nell'uso delle comuni sostanze anticrittogamiche ed insetticida.

11) Il mercurio può sostituire il rame sotto forma di proteinato per combattere le peronospore ed i miceti parassiti.

12) Il *Solfoproteinato di Mercurio* è un prodotto prettamente italiano perchè costituito da caseina ricavata dai nostri latti, solfo e mercurio prodotti delle nostre miniere.

13) Risparmio di valuta non indifferente. Calcolato il consumo annuo di solfato di rame per la sola peronospora della vite in 900000 quintali, sono circa 100 milioni di oro che ogni anno vanno all'estero, che si possono risparmiare se si sostituisce il Cu con il Hg; (un quarto circa del peso di solfato di rame essendo dato dal metallo).

SOMMARIO

Gli Autori propongono lo *zolfo-proteinato di mercurio* in pasta od in polvere quale nuovo fitofarmaco, ne esperimentano le proprietà anticrittogamiche ed insetticide e ne elencano i vantaggi in confronto dei fitofarmaci fino ad oggi in uso.

SUMMARIUM

AA. *Sulphur Proteinatum Hydrargyrii* novam plantarum medicinam proponunt, cuius, experti quid ad Cryptogamam preveniendam vel ad insecta exstinguenda valeat, utilitates, quas quidem plures affert quam ceterae medicinae usque adhuc adhibitae, enumerant.

R. Laboratorio Crittogamico italiano
Pavia, gennaio 1939 - XVII.

R. UNIVERSITÀ DI PAVIA
ISTITUTO BOTANICO « GIOVANNI BRIOSI »
E
LABORATORIO CRITTOGAMICO ITALIANO
DIRETTI
dal Prof. GINO POLLACCI

RICERCHE SUL POTERE PATOGENO DEI MICETI

I.

Esperienze con la *Beauveria Bassiana* (Bals. Criv.) Vuill. sul *Bombyx mori* L.

Prof. Dott. ELIO BALDACCI

Vice Direttore del R. Laboratorio Crittogamico Italiano

INDICE

Introduzione e scopo del lavoro . . . . . *pag.* 154
Considerazioni sulla patogenicità dei miceti degli insetti e sulle cause che ne ostacolano la diffusione artificiale . . . . . » 154
Notizie storiche sulla patogenicità della *Beauveria Bassiana* (Bals. Criv.) Vuill. . . . . » 159

Parte Sperimentale

Infezioni preliminari . . . . . » 166
La patogenicità della *B. Bassiana* in rapporto ai passaggi sull'animale . . . . . » 169
La patogenicità delle spore in rapporto alla loro origine e all'età in coltura . . . . . » 170
Ricerche sull'esistenza di una immunità del *Bombyx mori* L. al « calcino » . . . . . » 173
Discussione dei resultati e conclusioni . . . . . » 174
Riassunto . . . . . » 177
Summarium . . . . . » 178
Summary . . . . . » 178
Bibliografia . . . . . » 179

Introduzione e scopo del lavoro

Con il presente lavoro iniziamo una serie di ricerche destinate ad indagare quali siano gli elementi o fattori del potere patogeno dei miceti parassiti delle piante, e degli animali. In altri termini si tratta di stabilire attraverso quali attività vitali proprie dei funghi, questi riescono a superare le normali barriere loro opposte dai vari ospiti, a penetrare nei loro tessuti e svilupparvisi a danno dell'ospite. Sebbene di alcune malattie micosiche — specialmente nei vegetali — si conosca abbastanza esattamente la patogenesi e i vari mezzi vitali con i quali il fungo manifesta la sua aggressività, per molte altre le nostre cognizioni sono solo provvisorie o dedotte da fatti analoghi o da fenomeni più generici.

Iniziamo le esperienze con un fungo parassita del baco da seta, la *Beauveria Bassiana* (Bals. Criv.) Vuill., che, sebbene nota da tempo, presenta, come si vedrà, dei punti oscuri particolarmente per quanto riguarda la sua biologia e la sua patogenicità. L'argomento ci dà inoltre lo spunto per rivedere un interessante problema rimasto insoluto: la lotta contro gli insetti dannosi per mezzo dei parassiti fungini.

Considerazioni sulla patogenicità dei miceti e sulle cause che ne ostacolano la diffusione artificiale

Dopo un periodo di attiva sperimentazione le speranze fondate sulla lotta contro gli insetti dannosi con i miceti patogeni, come con altri microrganismi in genere, caddero, in seguito ai resultati in gran parte contradditori o negativi. In Italia non si è sperimentato molto a questo proposito, in ragione forse anche di una mancata collaborazione fra entomologi e micologi; per contro in Francia come in altre nazioni, sotto l'impulso dato dall'opera di Pasteur, non sono mancati i tentativi. Paillot (39, 43) ne riassumeva l'esito in un largo riassunto fin dal 1915, esponendo sommariamente le varie modalità di tecnica. Egli tentò anche una critica delle ragioni d'insuccesso o di parziale successo, non molto approfondita per altro, arrivando alla conclusione che nelle condizioni ordinarie la creazione di una epidemia è piuttosto in rapporto al concorso di fattori ambientali favorevoli o no allo sviluppo dei germi che alla dispersione artificiale sia pure intensa. Ripetendo le parole di Dufour, egli asseriva che il problema stava nella possibilità di determinare una epidemia, che si trasmettesse e si esten-

desse " per sè stessa „, rapidamente. Mentre in laboratorio, in ambiente confinato le infezioni riescono quasi sempre, in campo falliscono o non danno quei resultati equivalenti ad epidemie naturali o soddisfacenti alle ragioni per cui esse sono state compiute.

Picard (46) nello stesso anno pubblicava una lunga memoria, sullo stesso argomento, con una documentata bibliografia. Egli esponeva inoltre alcune vedute sulle micosi degli insetti e sulla virulenza dei miceti. Circa le possibilità di lotta pratica concludeva: " L'usage des champignons ne constituerà donc jamais un " traitement „. Leur action ne peut être immediate, mais on peut en tirer parti, en introduire de noveaux, qui rendront service lors des saisons humides, multiplier les foyers existants, comme font les Americain..., créer des conditions favorables à leur multiplication et à leur dispersion, etc. „. Egli terminava asserendo che questo compito era esclusivo dei naturalisti.

Masera (31, 33, 34, 35), ha recentemento portato notevoli contributi all'argomento, fra cui un voluminoso indice bibliografico sulle malattie infettive negli insetti e un riassunto delle nostre cognizioni attuali.

È stato relativamente facile stabilire che per il diffondersi e lo svilupparsi di epidemie occorrono delle condizioni ambientali favorevoli, fra i quali la temperatura e l'umidità in determinati rapporti. Si è anche riusciti per alcune specie di miceti e di insetti a stabilire con sufficente precisione queste condizioni.

Così le esperienze di M. Arnaud (3) che avremo modo di ricordare ancora, mostrano che lo sviluppo in coltura della *Beauveria Bassiana* e della *B. densa* ha il suo optimum a 27,5° C., e i limiti massimi e minimi fra 44° e 6° C. Toumanoff (54, 55) più recentemente, trova che l'esposizione al sole per due ore è sufficente a uccidere le spore di *B. globulifera*, mentre quelle della *B. Bassiana* dopo lo stesso trattamento sono ancora capaci d'infettare i bachi e solo con una esposizione di 3 ore appaiono uccise. Tralascio di ricordare altri dati rimandando al citato lavoro di Paillot (43). Anche l'umidità, secondo alcuni AA. è un fattore sfavorevole alla conservazione del potere germinativo delle spore; il Lambert citato da Paillot asserisce che nell'aria secca il potere germinativo delle spore di *B. Bassiana* si conserva per 3 anni. Vedremo più avanti le varie opinioni in merito, ma noi pensiamo di dover dubitare di uu periodo così lungo di vitalità. Il Voukanovitch (61) asserisce che " l'autunno e l'inverno umidi, e la primavera e l'estate asciutta sembrano riunire le migliori condizioni per favorire l'azione dei funghi „.

Le nostre conoscenze sulla diffusione delle malattie crittogamiche delle piante ci confortano del resto nell'affermare l'importanza dei fattori ambientali.

Ma è da rilevare che mentre nelle piante coltivate noi medesimi facilitiamo le infezioni operando la riunione degli individui in uno spazio determinato e fisso, per gli insetti anche nei casi più favorevoli questo raggruppamento viene a mancare o ad essere assai meno rigido, sia in rapporto allo spazio per la loro mobilità e per la loro necessità di spostamento in ricerca di cibo, sia in relazione al tempo per le successive generazioni a ritmo più o meno costante. Le epidemie sperimentali di laboratorio, difatti, sopprimono o annullano tutti questi elementi; e l'unica epidemia micosica con grave mortalità avviene nell'allevamento del baco da seta, che per esigenze nostre mantiene riuniti in spazio confinato moltissimi individui, analogamente a quanto avviene per le piante.

È per altro evidente che le condizioni esterne ambientali e quelle conseguenti alla vita degli insetti non sono le sole ad agire nel diffondere o nell'arrestare le epidemie micosiche. Vi concorrono fattori propri dei funghi e della loro particolare biologia. Molti di essi, difatti, non sono parassiti obbligati ma saprofiti del terreno od ubiquitari che in determinate condizioni, non meglio nè sempre precisate, riescono ad aggredire organismi viventi. Si deve così prendere in considerazione due fattori, che sono alla base dello studio dell'immunologia generale, e cioè quei complessi fenomeni còmpresi nei termini: stato di recettività dell'ospite (insetto) e virulenza del parassita (micete). Le nostre conoscenze a tale riguardo non possono dirsi complete.

Noi sappiamo che lo stato di recettività sia negli animali come nelle piante è in dipendenza di fattori svariati, sui quali esiste una abbondante letteratura e alla quale rimandiamo non essendo nel nostro intento una critica di questi fattori. Solo ci limitiamo ad osservare che il concetto dell'aumentata recettività in seguito al cosidetto ingentilimento è insussistente sia nel campo animale sia nel campo vegetale, salvo i casi in cui, in tutti e due i Regni, si stabiliscano razze elette che non possiedono per caratteri genetici la stessa resistenza originaria delle razze rustiche.

Vogliamo invece soffermarci ad esaminare più particolarmente ciò che chiamasi virulenza dei parassiti, entrando più da vicino nel tema del nostro studio. Nessuna particolare o specifica attribuzione presiede al concetto di virulenza, salvo il fenomeno di un potere aggressivo variabile in misura maggiore o minore secondo i casi e capace di portare a morte più o meno rapidamente l'ö-

spite parassitato. Diverse cause possono modificare questo potere e e fra le più invocate, a somiglianza di quanto si sa nello studio delle malattie infettive degli animali a sangue caldo e umane, è il cosidetto passaggio sull'ospite. Tuttavia vi sono poche ricerche sperimentali negli insetti a questo proposito. Notevoli ma con resultati negativi, quelle di Paillot (40) con i batteri entomofiti; l'A. conclude difatti che la virulenza di questi microbi non si accresce regolarmente dopo ciascun passaggio successivo sul medesimo ospite, ma essa è in funzione di fattori individuali mal conosciuti che presentano grandi variazioni da un individuo all'altro. Per quanto riguarda i miceti non sono a nostra conoscenza ricerche particolari. Solo diversi AA. hanno rilevato che la virulenza non si modificherebbe per il mantenimento del fungo in coltura. Così Arnaud (3) e Voukanovitch (61). Altri invece hanno addirittura rilevato che le spore originatesi in coltura sono più virulente di quelle raccolte sugli insetti. In questo senso proverebbero le antiche esperienze del prof. Forbes, riferite da Lamarlière (22) per la *Beauveria globulifera* e quelle più recenti di Masera (32) per lo stesso fungo.

Non molte maggiori sono le ricerche nel campo vegetale. È noto che l'ipotesi di " specie ponte „ di M. Ward, le quali avrebbero permesso la virulentazione delle ruggini su nuove varietà e razze di grano e di graminacee non ha retto al controllo sperimentale. In un certo senso possono essere interpretate favorevolmente invece le esperienze di De Bary con la *Sclerotinia Libertiana*, la quale sarebbe capace di attaccare le piante a condizione che la germinazione sia avvenuta alla spese di sostanza vegetale morta o su terreni nutritivi appropriati. Ispirate a queste ricerche sono pure le prove di Laurent (24) con due batteri saprofiti: il *Bacillus fluorescens putidus* e il *Bacillus coli communis*. L'A. partendo da ricerche sul valore della alimentazione come fattore di resistenza, constata in laboratorio che questi due bacilli attecchiscono facilmente su tuberi di patate, raccolti in campi concimati con calce mentre non sviluppano su quelli raccolti in campi concimati con Kainite. In questi ultimi lo sviluppo può avvenire solo dopo alcuni passaggi sui tuberi concimati con calce, che ne esalterebbero l'attività enzimatica, a detta dello stesso A. Questa virulenza si perderebbe appena i batteri sono coltivati su brodo o terreni nutritivi vari. Altre ricerche sono esposte in rapporto anche ad alcuni funghi, e che tralasciamo non interessandoci direttamente, ed essendo attribuite ad una perdita della resistenza naturale delle piante. È notevole che lo stesso resultato, possibilità cioè di virulentazione per le patate, l'A. abbia ottenuto per un ceppo di bacillo del tifo.

Di queste ed altre esperienze nelle piante si deve però osservare che la virulentazione avviene su organi o parti di piante e non su individui e, a parte ciò, che si tratterebbe di un ben definito processo di natura biochimica, cioè un maggiore incremento della attività enzimatica. Pertanto le affinità con quanto avviene nella patologia animale restano d'indole generale e analogica.

Altre divergenze nel comportamento della virulenza possono essere ricercate nella modalità d'azione dei funghi e dei batteri sugli insetti. È merito ancora di Paillot avere stabilito che la contaminazione " per os „ non può essere realizzata per i batteri entomofiti nelle condizioni di laboratorio e, a più forte ragione in natura. Ciò fa considerare all'A., impossibili tecnicamente le epidemie artificiali. La penetrazione attraverso le membrane esterne dei parassiti fungini pone in primo piano le attività di natura meccanica e enzimatica mentre quelle tossiche appaiono ridotte. La forma ordinaria di infezione negli insetti è la setticemica, la morte sopravvenendo quando i batteri e i funghi pullulano nei tessuti. Anche in questo le analogie sono maggiori con le malattie delle piante e minori con quelle degli animali a sangue caldo, pure non escludendosi del tutto, forme in qualche modo somiglianti.

Mentre per i batteri, sempre secondo il Paillot il ruolo morbidico delle tossine microbiche può considerarsi molto trascurabile; per i funghi ci è nota sull'argomento la sola esperienza di Toumanoff (54) che verificherebbe una mortalità del 100 % nelle api nutrite con miele aggiunto di filtrati colturali di *B. Bassiana* e di *Aspergillus flavus*. Tuttavia da questa unica prova non può dedursi una azione tossica dei funghi nei tessuti degli insetti aggrediti.

Sulla virulentazione dei miceti attraverso passaggi in animali a sangue caldo (topi) reputo utile ricordare le esperienze fatte dietro indicazione del Prof. Pollacci, dal Bresciani (63, 64) che inoculando ceppi di *Sterigmatocistis nigra*, *Aspergillus fumigatus*, *Haplographium De Bellae Marengoi*, *Trichosporium Mantegazzae*, otteneva dopo alcuni passaggi sull'animale la morte degli individui infettati per micosi generalizzata, in breve tempo. Analoghe osservazioni erano state fatte da Beurmann e Gougerot a proposito dello *Sporotrichum Beurmanni*.

Da queste brevi e riassuntive notizie appare evidente tuttavia la opportunità di ricerche sperimentali sull'argomento, che presenta notevole interesse e molti punti oscuri. In rapporto poi a quanto dicevamo in principio sulle ragioni del mancato sviluppo di epidemie artificiali, non si possono trascurare le particolari condizioni di vita dei miceti in natura, che essendo in maggior parte sa-

profiti ubiquitari, sono portati a riprendere una volta dispersi in campo, il loro habitat più confacente annullando l'azione patogenetica.

Notizie storiche sulla patogenicità della *Beauveria Bassiana* (Bals. Criv.) Vuill.

Sebbene non siano mancati gli isolamenti e le infezioni artificiali su altri insetti, la *B. Bassiana* è nota come l'agente del calcino del baco da seta. Delle altre specie, la *B. densa* Picard (= *B. tenella* Sacc.) non è considerata fino ad oggi parassita del baco da seta, la *B. effusa* fu studiata dal Beauverie (12) nei bachi da seta e la *B. globulifera* (Picard) è stata ritrovata per la prima volta su baco da seta recentemente da Masera (28, 32). Al contrario una rassegna completa delle specie di insetti attaccati dalla *B. Bassiana* e dalle altre specie di *Beauveria* non è stata fatta e sarebbe augurabile poterla realizzare con la collaborazione di entomologi; ciò unitamente ai resultati di infezioni sperimentali finora compiuti. Un tentativo di riordinare le nostre cognizioni sui funghi entomofiti è stato fatto da Petch (45) negli anni dal 1921 al 1927. Per quanto riguarda il lavoro dedicato alle *Beauveria*, egli, riaffermata l'insufficenza dei caratteri colturali e della pigmentazione del sustrato per l'esatta diagnosi delle singole specie, presenta un elenco degli insetti parassitati da questi funghi. Egli crede di poter asserire l'esistenza di razze biologiche diverse entro la specie. Della stessa opinione è il Siemaszko (53) nei riguardi della *B. globulifera* ma l'ipotesi avrebbe bisogno di conferme sperimentali. È evidente tuttavia che la sistematica di questo genere ha bisogno di essere rivista in base anche ai caratteri biologici, di cui finora non si è tenuto che scarso conto: esso è ricco di specie entomofite e forse suscettibile di dare resultati concreti nel problema sovraesposto.

Tralasciamo di prendere in considerazione per tutte queste ragioni la sistematica del genere e rimandiamo ai lavori di Vuillemin (62) fondatore del genere e alla monografia di Beauverie (12) e ai lavori ricordati.

Altre notizie sulla biologia dell'agente del calcino nel baco da seta si potranno avere consultando Pollacci e Nannizzi (47, 48) e naturalmente i vari trattati di Verson (59), Acqua (1), Fuschini (16) e Grandori (18) nonchè quelli del Paillot (42) e altri. Un riassunto delle prime conoscenze sulla patogenicità della *B. Bassiana* è fatto da Vittadini (58) e in seguito da Robin (51). È noto che è attribuito a Foscarini (15) la prima osservazione sulla contagiosità della

malattia del calcino, sebbene questo A. non fosse in grado di spiegare la natura della malattia (*). Si ricordano Configliacchi e Brugnatelli (15) per l'accenno ad un " odore fungoso „ della malattia, e secondo il Robin, anche il francese Bonafous che nel 1829 avrebbe constatato la possibilità di contagio per contatto dei bachi efflorescenti non solo per le larve del bombice ma anche per quelle di *Phaloena verbasci.*

Nella sua opera veramente completa, anche se per taluni aspetti superata dalle moderne cognizioni microbiologiche, il Bassi (8, 11) afferma ripetutamente l'alto potere patogeno della *B. Bassiana.* Egli asserisce inoltre di avere intrapreso esperimenti sulla " durata del contagio calcinale „ ed è in grado di poter asserire che " l'esistenza attiva di questi germi ha pur essa un limite... al di là del quale non è loro permesso di esercitare la virtù loro attaccaticcia. D'ordinario la loro vita latente e con essa conseguentemente la loro potenza contagiosa, si spegne prima che compia il biennio della loro nascita, ossia dell'età loro, di maniera che nella seconda educazione dei filugelli, successiva a quella in cui furono essi germi generati, la loro presenza riesce innocua ai preziosi animaletti „. Non sono descritte particolarmente le esperienze su cui il Bassi fa la sua affermazione, ma poichè da quanto egli stesso scrive in altro lavoro (1837) sappiamo che egli non è riuscito a coltivare il fungo su sustrati organici, si è nel certo affermando che egli fece le sue prove con bachi calcinati conservati per vari anni.

(*) Le esperienze di questo A. sono assai interessanti e dimostrano come egli fosse riuscito a stabilire effettivamente la possibilità del «contagio» non solo dai bachi calcinati, ma dagli utensili e dagli oggetti che servirono per i bachi infetti.

Dalla esposizione particolareggiata delle esperienze di Foscarini, risulta che egli cercò anche di stabilire se fosse possibile «conoscere quando il baco era affetto dalla malattia» prima dell'apparizione della calcinazione (pag. 73). Ma egli potè solo descrivere assai attentamente alcuni sintomi della malattia (pag. 73, nota 1) e avendo effettuato un'unica esperienza con bachi apparentemente sani prelevati da lotto infetto e posti nella stessa stanza ma separati da un lotto sano, non riuscì a vedere in questi ultimi nessuna infezione, tanto più che egli evitava che i bachi del lotto infetto si calcinassero, togliendoli via appena non davano più segni di vita. L'esperienza lo condusse ad affermare «essere probabilissimo che la malattia conducente i bachi alla morte ed alla calcinazione non sia di per sè stessa contagiosa».

Questa separazione fra «malattia» e «contagio» si ripete del resto anche quando Bassi pubblica il suo lavoro (si veda l'introduzione alla Parte II o Pratica del Bassi) ed è appunto nell'affermazione del nesso loro l'originalità e la genialità della scoperta del Bassi.

Ciò è esposto anche in altri passi dei suoi lavori, che per brevità omettiamo. Il Bassi precisa ancora che " nei paesi elevati e negli asciutti „ le spore del fungo conservano più a lungo il potere patogeno, mentre " negli irrigui o altrimenti umidi non arrivano mai o ben di rado al secondo anno della loro età e per lo più periscono avanti l'allevamento dei bigatti susseguenti a quello in cui ebbero origine o seppur vivono si trovano a quell'epoca già sì affievoliti che difficilmente possono d'ordinario rigenerarsi... Ben conservati però questi germi... si possono mantenere attivi, ossia contagiosi, pressochè un intero triennio, come appare da parecchi miei esperimenti „. Una nota a questo punto precisa che questo potere è conservato nei casi in cui il fungo cresca " col maggiore vigore di vegetazione sui cadaveri posti recenti al maggior grado di umidità... e conservati quindi, giunti al massimo loro incremento in luogo asciutto e difeso dal contatto rinnovato dell'aria più che è possibile, non però in vasi chiusi „. L'eccessiva umidità dà luogo invece ad una putrefazione per cui i cadaveri si alterano sì che danno " coll'innesto bachi non più calcinati, bianchi e duraturi, ma bachi negroni e corruttivi „. Il Bassi ha poi sperimentate conservando la massa polverulenta delle spore in scatole, " le une dentro le altre, dove la più piccola e più interna contiene la massa di spore... questa perde il suo potere patogeno più presto che se in una scatola sola „. Egli conclude che le " spore vogliono essere difese dall'aria atmosferica ma non vivono gran tempo se se ne impedisce il rinnovellamento „. La temperatura di sviluppo del fungo oscilla secondo il Bassi dai 7° ai 32° gradi Reamur, e i maggiori danni si hanno nel periodo di maggio e giugno.

Fra la pubblicazione dell'una e dell'altra parte del lavoro del Bassi il Balsamo Crivelli (6, 7) compie quelle osservazioni microscopiche che il Bassi si auspicava fossero fatte e alle quali invitava lo stesso Amici. Come è noto il Balsamo Crivelli confermò il reperto del Bassi dando una descrizione del fungo con il binomio *Botrytis paradoxa*, poi trasformato in *Botrytis Bassiana*.

È opportuno rilevare come il Bassi insistesse nella sua giusta interpretazione, nonostante le molte discussioni e le polemiche, e anticipasse uno dei capisaldi della odierna patologia scrivendo che " il contagio esiste nella facoltà riproduttiva (del fungo) quando fosse possibile rigenerarlo sopra corpi organici e quindi riportarlo sul filugello „. La riproduzione della malattia non avrebbe lasciato dubbi sulla sua vera natura. Purtroppo non toccò a lui riuscire nel deliberato proposito.

L'anno appresso Audouin (4, 5), che aveva già segnalato ed illustrato il lavoro di Bassi, compie varie infezioni artificiali con

esito positivo, e riesce a osservarne lo sviluppo in microcoltura, in emolinfa ed in acqua (quest'ultima forse inquinata). Ricche osservazioni morfologiche sono fatte nello stesso tempo da Montagne (38) e da Turpin (56). Il primo ripete le infezioni artificiali con esito positivo, ed osserva lo sviluppo su portaoggetti posti in sabbia umida delle spore recenti, mentre la germinazione è nulla in spore vecchie di un anno. Turpin (58) riesce per primo a coltivare la *B. Bassiana* su pezzetti di lardo, e stabilisce la patogenicità per altri insetti. Analoghe prove compie ancora Audouin.

Johnanys (21) nel 1839 riesce pure a coltivare il fungo su substrati organici e ne deduce accortamente che questo sviluppo è una delle cause di infezione delle bigattiere.

Nel lavoro di Robinet (52) che si riporta alle vecchie concezioni negando ogni patogenicità alla *B. Bassiana*, non ho trovato esperienze a questo proposito, contrariamente a quanto riporta Acqua (1) e secondo Acqua, anche il Maillot (27), che non ho potuto consultare. Solo un accenno è fatto dove si afferma che la acidità e l'alcalinità dei succhi animali impedisce lo sviluppo delle crittogame (*).

Negli anni 1847-1848 sono publicati i resultati di una missione compiuta per conto del Ministero dell'Agricoltura e Commercio di Francia, dai signori M. Guerin-Meneville e Robert E. (19). Gli AA. espongono in maniera assai chiara i dati acquisiti con le loro esperienze. Dopo aver studiato la morfologia del fungo, richiamandosi agli autori precedenti, e dopo aver compiuto alcune serie di infezioni artificiali, vengono alla conclusione che dette spore conservano il potere patogeno fin dopo un anno. Viceversa sperimentando con bachi calcinati, vecchi di 8 anni, solo pochi individui su 25 infettati ammalano di calcino, e ciò fa concludere agli AA. che la loro morte deve essere riferita ad una nuova ed accidentale infezione, altrimenti tutti i bachi sarebbero morti come nel caso di infezioni con spore di un anno. Essi concludono pertanto che il calcino si trasmette da un anno all'altro per la permanenza di spore della *B. Bassiana*, negli ambienti e negli oggetti.

Il Bassi venuto a conoscenza dei lavori dei due AA. francesi, li commenta in due riprese, rivendicando a sè stesso la priorità di alcune esperienze e affermazioni conclusive: " I germi del calcino si conservano vivi, ossia contagiosi per uno spazio di tempo più o

(*) È interessante confrontare queste ed analoghe vedute con quanto poco più tardi si doveva scrivere ed asserire per le piante, dove l'immunità di alcune specie e varietà veniva attribuita ad acidità dei succhi (Comes).

meno breve o lungo secondo le circostanze in cui si trovano, o per dir meglio, secondo la diversa azione su di loro esercitata dai diversi agenti loro nemici sì naturali che artificiali. Nei luoghi irrigatori ed umidi, come sono per esempio le provincie di Lodi e di Pavia, i detti germi si trovano d'ordinario già spenti nella educazione dei filugelli successiva all'anno di nascita degli stessi germi. Coll'arte però si può giungere a conservare in vita questi esseri fatali per più anni. Io potei conservarli tutti vivi sin dopo cinque anni dal loro nascimento, custodendoli in scatole di cartone, chiuse le une dentro le altre, ossia ponendo in questi recipienti poca polvere, detta calcinica, levata dalla superficie di cadaveri calcinati allorchè si è la medesima essicata „. Aggiunge però, come si è già detto, che nell'infezione artificiale si ottengono bachi " negroni „. Più sotto precisa: " I germi del calcino si mostrano tanto più attivi e micidiali quanto meno distanti sono dall'epoca della loro nascita ossia maturanza... „.

I lavori di Vittadini (58, 59) hanno il merito di precisare molti punti in discussione della biologia del fungo e della patologia del baco. Egli fissa definitivamente le vie d'ingresso all'infezione, rilevando il valore del contagio attraverso l'epidermide; indaga le cause predisponenti e studia magistralmente le alterazioni anatomiche e istologiche sì che lo stesso Paillot dichiara che i lavori successivi hanno potuto modificare ben poco su questo punto la descrizione così completa e precisa data dal Vittadini.

Sull'argomento ritorna l'Haberlandt (20) che è dell'opinione che le spore di *B. Bassiana* non durino in vita più di un anno. Poichè tale opinione è riportata in maniera inesatta da alcuni trattatisti, vale la pena di ritrascrivere il passo preciso dell'A. " A nostro avviso le spore della Botrite non conservano più di un anno la facoltà germinativa. Con spore di un anno e mezzo secche, non ci è riuscita la contagione di bachi sani che del resto avviene sicuramente; onde in locali che da più di un anno non servirono alla educazione dei bachi, per riguardo al calcino sono inutili le disinfezioni „.

Quaiat e Rossinski (50) descrivono nuove esperienze dopo aver riassunto l'opinione degli AA. che li hanno preceduti.

L'opinione dell'Haberlandt, è riportata inesattamente attribuendogli cioè l'affermazione che le spore durino in vita un anno e mezzo, e aggiungono chè tale opinione fu confermata sperimentalmente dal Silva di Torino e contraddetta dal Venturoli (*), che

(*) Mancano le indicazioni bibliografiche di questi due AA.

riteneva la vitalità delle spore durevole per tre anni. Anche il Maillot (Leçons sur le vers a soie, pag. 95 e Relazione del dott. Ottavi: Il Bacologo, n. 6), secondo questi AA., propende per tre anni di durata in vita e ciò in base alle esperienze di Bassi e Robinet (cfr. per questo A. a pag. 162).

Quaiat e Rossinski (50) hanno sperimentato con spore conservate, insieme al baco calcinato, in fiale chiuse ermeticamente, e mantenute in stanza riscaldata durante l'inverno. Osservano essi stessi: " certo queste condizioni non sono eguali a quelle come se avessimo lasciati questi bachi in mezzo alla carta bucata, in una soffitta ventilata abbondantemente o con un conveniente grado di umidità che sempre regna nell'atmosfera „. I resultati delle infezioni furono negativi; ed essi concludono che " le spore, come asseriva l'Haberlandt, perdono la loro vitalità fra il primo e il secondo anno ed in via del tutto subordinata, fondandosi sopra varie osservazioni fatte per lo passato, saressimo inclinati ad ammettere che qualche volta, sotto condizioni che a noi sfuggono, questa vitalità delle spore può essere perduta anche da un anno all'altro „. Essi riferiscono ancora di molte esperienze fatte nell'intento di stabilire quale fosse la via più facile d'infezione e concludono che " in via generale la infezione avviene per la cute, più difficilmente per gli stigmi ed in via eccezionale per il tubo intestinale „. Essi non prendono invece posizione sul fatto che non tutti gli individui muoiono nelle infezioni sperimentali, riferendole a una immunità individuale non meglio precisata.

Il Quaiat (49) in un successivo lavoro studia i mezzi più adatti per distruggere il calcino negli allevamenti e presenta in appendice alcune esperienze sulla resistenza al calore delle spore di *B. Bassiana*, da cui risulterebbe che esse sono distrutte a 75° C. per 15 minuti primi. Ciò concorda abbastanza con quanto avevano scritto pochi anni prima Perroncito e Saglietti (44), secondo i quali le spore della *B.* muoiono se fatti bollire per 2-3 minuti nell'acqua o dopo 10-20-30 minuti fra 60° e 70° C.

Non mi risulta che siano state compiute altre ricerche negli anni successivi, ad eccezione di numerosi tentativi di infezione artificiale su altre larve di insetti, ma queste ricerche non sono qui prese in considerazione (*). Reputo utile invece ricordare le espe-

(*) Poichè inedite, riferisco qui alcune esperienze di Ciferri R., che non riuscì a infettare con la specie di *Beauveria* le larve della *Dilophoneta*, (Sphyngidae), parassita delle piante di *Manihot esculenta*. Le esperienze furono compiute fra il 1930-1932 a Santiago de los Caballeros (Repubblica Domenicana). I ceppi fungini provenivano da Baar.

rienze di Conte e Levrat (16) che studiando l'anatomia patologica mostrano che i filamenti micelici penetrano facilmente attraverso lo strato chitinoso, grazie all'azione dissolvente di una diastasi che sembra essere identica a quella che agisce sulla seta e che essi sono riuscite a isolare facendo macerare il fungo in coltura nella glicerina e precipitando in seguito con alcool.

Più tardi Molliard (36, 37) stabilisce un potere di fluidificazione in coltura dell'*Isaria densa* (= *Beauveria densa*) su ovalbumina, gelatina, fibrina con formazione di cristalli di ossalato di ammonio. Su queste esperienze torna recentemente Langeron (23) che verifica un azione proteolitica su siero coagulato per le specie di *B. globulifera*, *B. Brumptii*, parassita questa dell'uomo, mentre l'azione proteolitica manca per un'altra specie di *Beauveria* indeterminata e forse non patogena.

Ricordo le esperienze di M. Arnaud (3) secondo la quale le colture di *B. Bassiana* mantenute per più di due anni su mezzo artificiale, *con successivi trapianti* non mostrarono di diminuire di virulenza. La modalità di queste esperienze è però diversa da quelle degli sperimentatori precedenti.

Infine Paillot (41, 42) nel 1929 e nel trattato del 1930 studia istologicamente l'azione patogena della *B. Bassiana* nei tessuti del baco da seta. Secondo questo A. lo strato chitinoso è perforato dai filamenti micelici nati dalla germinazione delle spore. Si tratta, egli scrive, di una vera coltura del fungo a spese della sostanza chitinosa.

Successivamente i filamenti attaccano disgregandolo lo strato cellulare ipodermico, dove avvengono interessanti fenomeni patologici, che non riassumiamo. Basti dire che l'A. non è propenso ad una interpretazione di una fase immunitaria o comunque di reazione nella lettura di preparati istologici a questo stadio, ma piuttosto di una reazione infiammatoria del tipo classico. Il fungo si moltiplica nelle immediate vicinanze della zona di penetrazione, e successivamente passa nell'emolinfa, dove era stato osservato dai primi osservatori. La morte si ha solo quando la diffusione nel sangue degli elementi fungini è molto densa, e finalmente, solo dopo la morte, ha luogo l'invasione del fungo negli organi.

Analoghe osservazioni furono fatte dal Lefèvre (25, 26) su *Pirausta nubilalis* infettata da *B. Bassiana*. L'A. descrive le alterazioni istologiche asserendo che la penetrazione avviene attraverso lo strato chitinoso. Nella prima segnalazione scrive che il fungo non perde il suo potere in coltura su mezzi artificiali, ma non precisa il tempo.

Il Toumanoff (54) afferma che le spore di 6 mesi di età di *B. Bassiana* e di *Isaria farinosa* sono ancora capaci di infettare le larve di *Pyrausta nubilalis*. Come si vede qui siamo ben lontani dai dati dei primi ricercatori sull'infezione del baco da seta.

Sull'argomento è tornato recentemente Masera (28, 35) con una serie di pubblicazioni relative a numerose e ben condotte esperienze. L'A. dopo aver constatato alcuni fenomeni di antagonismo e antibiosi fra il *B. prodigiosus* e la *B. Bassiana*, porta un notevole contributo allo studio sulla virulenza di alcuni miceti. Tra gli altri egli infetta larve di *Tenebrio molitor* con spore di *B. Bassiana* e *B. globulifera* rilevando che la mortalità è in rapporto alla quantità di spore usate; è ritardata negli allevamenti a temperature più basse; mentre le larve sono più recettive subito dopo la muta e l'associazione del *B. prodigiosus* diminuisce la mortalità nei confronti della *B. Bassiana*. Infine per quanto più da vicino ci interessa egli ritiene che le infezioni artificiali riescano più mortali con spore da colture che con quelle prelevate da individui ammalati, sia per la *B. Bassiana* sia per la *B. globulifera*.

PARTE SPERIMENTALE

Le esperienze che vengono qui riferite furono compiute negli anni 1937 e 1938, nei corrispondenti periodi di allevamento del baco da seta (primavera ed estate). Il materiale ci fu fornito dal Prof. C. Jucci, direttore dell'Istituto di Zoologia della R. Università, che qui ringraziamo anche per i consigli con i quali ha voluto seguire queste esperienze. Le colture di *Beauveria Bassiana* usate in queste ricerche provengono una da nostra diretta coltura da baco calcinato rimessoci dallo stesso Prof. Jucci (ceppo I), l'altra dalla R. Stazione di Bachicoltura di Padova, diretta dal Prof. Pigorini e ricevuta per tramite del dott. Masera (ceppo M). Le ricerche sono esposte in ordine ai vari problemi propostici, senza tenere in conto l'ordine cronologico, che del resto non è molto alterato.

Infezioni preliminari

Con queste infezioni ci proponevamo l'analisi di quelle modalità di tecnica e di operazione, le quali facilitassero la ricerca successiva di una virulentazione per mezzo di passaggi sull'animale. Pertanto queste inoculazioni sperimentali dovevano soddisfare ai seguenti requisiti:

1) Infettare sicuramente tutti gli individui in esperimento.
2) Sperimentare sopra un notevole numero di individui.
3) Conteggiare facilmente i bachi.
4) Stabilire la durata del periodo di incubazione della malattia nelle nostre esperienze poichè l'eventuale aumento di virulenza del fungo avrebbe potuto manifestarsi oltre che con l'aumento percentuale dei bachi morti, con un acceleramento di detto periodo di incubazione.

In conseguenza della necessità, stabilita nel punto 1) abbiamo scartato senz'altro il metodo seguito da Bassi e dai primi ricercatori consistente nel porre nei graticci d'allevamento un certo numero di bachi calcinati, non potendosi in tal modo avere la certezza di infettare tutti gli individui, che a condizione di usarne in numero molto limitato.

Si pensò successivamente di infettare le foglie di gelso prima di darle ai bachi, spalmandone la superficie con patina colturale di *B.* con un pennello. Tale metodo offre la sicurezza di infettare tutti i bachi per contatto, strisciandovi essi sopra, e forse, per via orale. Tuttavia con tale metodo, ma evitando che i bachi vi camminassero e tenendo le foglie sospese in alto, il Quaiat e il Rossinski (50) non verificarono infezioni.

Il metodo ha per altro l'inconveniente di richiedere un notevole allestimento di colture sia in tubi che in piastre e di essere assai laborioso, specialmente volendo infettare moltissimi allevamenti. Si inocularono con siffatto sistema dei gruppi di bachi, raccolti alla schiusura, di razza Oro Chinese, mantenuti in scatole Petri, tenute aperte o appena socchiuse, e funzionanti in tal caso come camera umida, per mezzo di un batuffolo di bambagia bagnata postavi dentro. Le scatole erano mantenute in ambiente di laboratorio (18° C.) e in termostato a 22° C. La foglia infetta era somministrata in una sola volta ad eccezione di un lotto che fu alimentato con foglia infetta per tre giorni, un pasto sì ed uno no. In tutti i casi la mortalità è notevole fin dai primi giorni. Si osserva inoltre che a 22° C. e in ambiente umido, il tempo di incubazione della malattia è minore ottenendosi i primi morti dopo 4 giorni, mentre a 18° C. in scatole aperte, appaiono dopo 6-8 giorni. Il tempo d'incubazione della malattia e la mortalità giornaliera non aumentano, con un numero maggiore di pasti infetti. L'uso di bacolini palesato alla schiusura se presenta il vantaggio di agire su larghe masse numeriche, ha per altro l'inconveniente di richiedere un difficile ed incerto conteggio degli individui.

Restava un terzo metodo e cioè di aspergere direttamente i bachi, sia usando spore raccolte da individui infetti, sia da coltura,

in stato polverulento o in sospensione acquosa. Si sperimentò ancora su di un lotto di bacolini appena schiusi e su bachi di 3 età (dopo la 2ª muta) e su bachi in 2° sonno della razza Oro chinese; l'aspersione era fatta con polvere di spore di *B.* raccolta da bachi calcinati. La mortalità è notevole e talora totale dopo 9-10 giorni, mentre il tempo d'incubazione oscilla ancora su i 6-7 giorni. Non si osservano differenze se la somministrazione di spore è fatta in una sola volta o se ripetuta per più giorni.

La raccolta di spore da individui già infetti non corrispondeva alle necessità delle nostre esperienze; pertanto compimmo in parallelo nuove infezioni con materiale di spore raccolte da colture in terreno Pollacci; la sospensione in acqua era filtrata, se troppo grossolana su lana di vetro, e quindi spruzzata nei bachi di 3 età o in muta (2 muta) con uno spruzzatore (*).

Con tale sistema ottenevamo di colpire con ogni certezza tutti gli individui, che per maggior sicurezza erano allevati in lotti non eccessivamente numerosi, circa un centinaio, in scatole di carta o in graticci separati. La presenza dell'acqua favoriva la comparsa della flaccidezza in quantità non preoccupante. Per altro era favorita anche la germinazione delle spore senza che si verificassero variazioni sia nel tempo di incubazione sia nel ritmo di mortalità, che apparve pressochè identico come nelle prove precedenti. L'identità delle condizioni in cui venivano a porre i vari lotti non alterava i rapporti per lo studio propostoci. Vedremo dall'esposizione delle esperienze che questo ritmo si presenta con una notevole costanza. Questo metodo presentava inoltre il vantaggio di poter distribuire in maniera meno arbitraria la quantità di spore. Difatti la densità della sospensione era facilmente regolata sia pure grossolanamente dal grado di intorbidamento del liquido. Se ciò era ben lontano da darci un dato esatto, era possibile per lo meno comparare ogni volta un trattamento con il precedente, ciò che non si poteva ottenere con nessuno dei metodi su descritti.

Riferisco ancora su di una esperienza di coltura di *B.* in terreno liquido (acqua peptoglucosata) aggiunto ad urea. Era nostro intento di controllare se in presenza di questa sostanza il fungo sviluppasse e sporificasse più rapidamente. È noto difatti che i bachi conteugono urea nella emolinfa.

La quantità aggiunta al liquido di coltura era del 0,5 %. Tale percentuale era ricavata considerando che l'urea è presente nella

(*) Servirono ottimamente quelli in uso per profumeria.

emolinfa dei bachi in proporzioni del 48 mmgr. per cento grammi (bachi di razza oro chinese in prima muta). Facendo eguale un grammo di acqua peptoglucosata ad un grammo in peso di bachi si aveva lo 0,48 %, e arrotondando lo 0,5 %. Si sperimentarono i due ceppi di *B. Bassiana*, quello proveniente da coltura (Ceppo M) e quello isolato da baco calcinato (Ceppo I). Dopo 5 giorni si osserva che il ceppo M presentava uno sviluppo superiore in liquido senza urea, mentre per il ceppo I, lo sviluppo era maggiore in liquido con urea. La sporificazione era normale in tutti i casi. Data la unicità della prova non è possibile pronunciarsi, ma si potrebbe sospettare che i ceppi di recente isolamento siano in grado di trasformare più rapidamente questo prodotto.

La patogenicità della *B. Bassiana* in rapporto ai passaggi sull'animale

Con la tecnica des ritta (sospensione acquosa di spore) si sono compiute una serie di inoculazioni su lotti di bachi da seta, di razza Oro chinese in 3 età (usciti dalla 2ª muta). Ottenuti i primi morti calcinati dalla prima infezione, il fungo era reisolato in coltura pura su terreno Pollacci e coltivatovi per 7 giorni circa, fino a sporificazione completa, dopodichè era usato per la seconda infezione su di un nuovo lotto di bachi della stessa età e razza, con l'identica tecnica. Nonostante che le nascite dei bachi fossero per lo scopo distribuite nel tempo, a causa della brevità del periodo di allevamento e della relativa durata delle varie operazioni (reisolamento, purificazione e coltivazione in agar) non si poterono eseguire molti passaggi sull'animale. In previsione di ciò si volle sperimentare con tutti e due i ceppi di *B.* in nostro possesso, e cioè con il ceppo I e con il ceppo M. Le due diverse provenienze dei ceppi ed il loro diverso soggiorno in coltura potevano — come difatti avvenne — darci maggiori elementi per una disanima del fenomeno. I bachi, per queste prove, sono tenuti in scatole di carta, senza coperchio, in numero controllato (circa 100). Ad eccezione della prima inoculazione, tutte le restanti, furono compiute in una stanza esposta a Nord del nostro Laboratorio e con la stessa modalità. Tuttavia a preservarci dalle variazioni in dipendenza dell'ambiente e sopratutto dell'avanzarsi della stagione estiva, si ripeteva un controllo ad ogni passaggio. Tale controllo consisteva, come si comprende facilmente, nel ripetere le infezioni col ceppo originario trapiantato in coltura, senza passaggio cioè sull'animale.

Le prove piuttosto lunghe e laboriose sono riassunte nei seguenti prospetti e diagrammi (Tav. I-VII e grafici 1 e 2). Come risulta dall'esame delle tabelle e più visibilmente dai diagrammi, per il ceppo I non si verificò nessuna variazione della mortalità assoluta e giornaliera dopo un passaggio sull'animale; la stessa osservazione si deve fare nei riguardi del tempo di incubazione della malattia. Nella terza infezione (2° passaggio sull'animale) mentre la mortalità assoluta rimaneva invariata, la mortalità giornaliera o ritmo di mortalità apparve più lento (graf. 1, linea 4). Non è possibile stabilire le ragioni di questa variazione, ma essa appare indipendente della virulenza o patogenicità mentre è forse in relazione all'innalzamento della temperatura e alla siccità maggiore dell'aria dell'ambiente. Si confronti a questo proposito il diagramma del ceppo M nel 1° passaggio sull'animale fatto nella stessa epoca (graf. 2, linea 1) e le temperature riferite a pagina seguente, che sebbene osservate nell'anno successivo, sono quelle dello stesso locale.

Una notevole diversità sia nella mortalità assoluta sia nel ritmo di essa mortalità si osserva invece per il ceppo M. I resultati della prima infezione danno delle medie assai basse (Tav. V) ma non possono essere presi in considerazione, l'esperienza essendo stata interrotta. Il passaggio sull'animale ha tuttavia esaltato l'attività patogena fino al punto di ottenere un alta mortalità assoluta, superiore allo stesso successivo controllo, mentre il ritmo di mortalità sembra rimanere uniforme. Si confronti l'andamento delle curve 1 e 2 nel grafico 2.

Da questi elementi, mentre non era dato di scorgere alcuna possibile esaltazione della patogenicità nel ceppo di recente isolamento, per quello da tempo in coltura si poteva sospettare una sorta di attenuazione in coltura e tale che un unico passaggio sull'animale era sufficente a cancellare quasi interamente.

Se si osserva che l'andamento delle linee dei due grafici, per la terza infezione del ceppo I e per la seconda infezione e controllo del ceppo M, presentano un andamento analogo (a parte i diversi valori) è lecita la supposizione che oltre alla intrinseca patogenicità dei ceppi entrino in gioco fattori esterni ambientali.

La patogenicità delle spore in rapporto alla loro origine e all'età in coltura

Riportiamo, prima di procedere alla descrizione delle esperienze, il calendarietto delle temperature massime e minime del locale di prova durante il periodo delle infezioni (1938):

Temp. in C.	Mass.	Min.	Temp. in C.	Mass.	Min.
21 maggio	20	15	16 giugno	22	19
1 giugno	20	18	20 giugno	23	19
6 giugno	20,5	18	22 giugno	26	19
7 giugno	22	18	23 giugno	26,5	23
8 giugno	24	18	24 giugno	26,5	23
10 giugno	25,5	22	26 giugno	27,6	23,5
13 giugno	23,5	19	28 giugno	27,2	23,3
14 giugno	23	18,5	2 luglio	28	24
15 giugno	23	18	4 luglio	27	21

Sono state compiute due infezioni preliminari, con il solo ceppo M, da colture di 9-10 giorni di età sporificate, su di un notevole numero di individui, di razza oro chinese e Bianco Italia. Le infezioni sono riassunte nelle tabelle 8-9 e nel grafico 3. La percentuale di morte di queste infezioni è del 66,4 % e del 61,4 % cioè inferiore a quella del ceppo I per l'anno precedente e pari per una prova a quella dell'anno precedente per il ceppo M. Il ritmo di mortalità (o mortalità giornaliera) è diverso per le due prove ma solo apparentemente, poichè una di esse, su bachi oro chinese, fallì alla prima infezione e fu necessaria una seconda inoculazione dopo 10 giorni. Il ritmo di mortalità appare analogo se si fa astrazione dei 6-7 giorni nei quali non vi sono che scarse morti in seguito alla prima infezione. Le ragioni della mancata infezione non sono palesi. Con queste prove resta tuttavia stabilito che la mortalità del ceppo M, non appare variata sensibilmente di fronte ai resultati del primo anno (esclusione fatta della prova di cui a Tav. V).

Successivamente si sperimentava una nuova serie di inoculazioni con le seguenti modalità:

1 lotto inoculato con il ceppo M, reisolato da bachi calcinati in precedenza e coltivato in coltura per 7 giorni (1° passaggio sull'animale).

2 lotti inoculati con il ceppo M, con spore di colture vecchie di circa 10 mesi di età. L'aspetto di queste colture era farinoso, con l'agar quasi completamente scomparso e il colore delle spore giallognolo.

1 lotto inoculato con sospensione di spore raccolte direttamente dai bachi ammalati dell'esperienza precedente.

Con queste infezioni ci proponevamo di constatare:

1) se l'età delle spore prodotte in coltura influisse o no sul potere patogeno;

2) se vi fosse differenza di patogenicità fra le spore prodotte in coltura e quelle prodotte sui bachi ammalati.

I resultati e le razze usate ed il numero di individui infettati appaiono dalla tabella X e grafico 4; dalla lettura di quali risulta che le spore di 10 mesi di età di *B. Bassiana* originatesi in coltura non sono capaci di infettare i bachi. D'altro lato, poichè le stesse spore sono da considerare germinabili agli effetti del trapianto in agar (terreno Pollacci) dando origine a nuove colture, se ne deduce che il potere patogeno è legato ad altri fattori oltre quello della solo germinabilità delle spore. È da rilevare che le nuove colture così ottenute sono capaci alla loro volta, appena sporificate, di infettare i bachi. Pertanto il *potere patogeno può essere ristabilito senza il passaggio sull'animale.*

La mortalità assoluta dei bachi trattati con spore di coltura è leggermente superiore a quella dei bachi infettati con spore ricavate da bachi calcinati. Il leggero scarto (10 %) non ci sembra sufficente per il momento ad asserire il fenomeno in maniera definitiva.

In vista dei resultati ottenuti si effettuano delle colture in piastre (colonia gigante) e delle microculture con spore di 10 mesi di età, con spore di circa 7-10 giorni di età e con spore originatesi su bachi infetti. Ne riassumiamo i dati nelle tabelle XI-XII.

Oltre queste prove altre microcolture in agar furono effettuate sostituendo alla goccia d'acqua peptoglucosata una goccia di agar fluido, che veniva insemenzato, appena solidificato. I resultati sono analoghi poichè mentre la germinazione di spore di 10 mesi di età è scarsa nel numero e nello sviluppo, quella delle rimanenti è abbondante e rigogliosa. I vetrini sono stati sotto osservazione per circa 20 giorni.

In riassunto la germinabilità delle spore di coltura da baco calcinato è quasi totale e può forse variare a seconda dei sustrati usati; quella di spore di circa 10 mesi di età *è scarsa numericamente pur essendo ancora in grado di dare origine a colture su sustrati artificiali* (terreno Pollacci).

A maggiore conferma del potere patogeno esplicato dalle spore di *B. Bassiana* si effettuano ancora delle infezioni su individui isolati in numero limitato. Si scelsero pertanto 5 individui della razza Bianco Italia alla quinta età e 10 della razza Oro chinese in quarta età e furono allevati in 3 lotti di 5 individui ciascuno in scatole Petri aperte. Ogni lotto comprendeva 4 bachi Oro chinese e 1 Bianco Italia. L'infezione fu fatta portandovi sopra le spore con un pennellino bagnato nell'ordine suesposto e cioè: un lotto con spore di 10 mesi di età; un lotto con spore di 10 giorni di età, e il terzo con spore da baco calcinato.

I resultati furono quanto mai significativi perchè i bachi del primo lotto, inoculati cioè con spore vecchie non ammalarono e giunsero a formare il bozzolo senza danno e sfarfallarono regolarmente. Negli altri lotti i bachi morirono di calcino.

Appare pertanto evidente da queste ricerche che il potere patogeno delle spore di *B. Bassiana* per il *Bombyx mori* è in rapporto ad altri fattori, oltre la facoltà germinativa, e che questi fattori sono meno duraturi. Da quanto è noto sulla biologia del fungo e da quanto è stato precedentemente esposto, se ne deduce che la perdita della attività enzimatica (capacità di sciogliere la chitina dello strato epidermico del baco da seta) avviene in coltura prima della completa perdita della germinabilità delle spore e che a questa perdita si deve principalmente attribuire la mancanza di potere patogeno per queste spore.

Ricerche sull'esistenza di una immunità del *Bombyx mori* L. al calcino

Risalgono ai primi ricercatori le osservazioni sul fatto che negli allevamenti dove infierisce il calcino, non tutti gli individui rimangono colpiti in modo da aversi la distruzione totale dell'allevamento.

Vittadini (58) aveva già affermato che tutti i bachi sono sensibili alla malattia, pur osservandosi delle diversità in rapporto all'età: così i bachi di quinta età sono meno resistenti di quelli della prima età; ma ciò è in rapporto secondo l'A. a variazioni meccaniche della porta d'ingresso dell'infezione piuttosto che a differenze di resistenza organica.

Abbiamo visto invece come Quaiat e Rossinski (50) propendessero per una spiegazione immunitaria, altribuendo i casi di bachi non calcinati ad una resistenza individuale.

Anche Beauverie (12) aveva emesso l'ipotesi che la diminuzione d'intensità della malattia all'epoca in cui scriveva, fosse in relazione ad un ipotetica attenuazione del potere patogeno del fungo o viceversa ad un aumento di resistenza del Bombice, o infine per tutte e due le cause. Come ha già osservato il Paillot (43), queste considerazioni generali non riposano che su fatti insufficenti e insufficentemente dimostrati. Possiamo aggiungere che la causa più probabile della diminuzione del calcino consiste nelle maggiori cure prese a questo scopo, dopo la conoscenza della malattia. D'altro lato è noto come in Italia i danni arrecati dal calcino siano ancora notevolissimi. Si confrontino le recenti statistiche (2).

In ogni modo per indagare sulla possibilità o meno di selezionare dai sopravissuti all'infezione sperimentale uno stipite immune abbiamo allevato nella stessa stanza delle esperienze precedentemente descritte un numero notevolissimo di bachi, infettandoli alla seconda o terza età con spruzzature di sospensioni di spore da colture.

Non siamo in grado di dare il numero totale di queste inoculazioni su vasta scala ma esso può essere indicato fra i 40 o i 60 mila individui. Le inoculazioni erano ripetute a intervalli di circa 5-6-7 giorni; gli individui morti da calcino venivano sostituiti con nuovi da covature più recenti fornitici sempre dall'Istituto di Zoologia. Da queste " stragi „ in continuità abbiamo solo potuto salvare un totale di 416 bozzoli, la maggior parte mal filati e calcinati durante la filatura. Dai bozzoli non calcinati uscirono solo 9 farfalle da cui si ottennero solo 3 covate che furono conservate fino all'anno successivo (1938).

La schiusura fu parziale e i bachi allevati nel 1938, si manifestarono fortemente infetti da pebrina. La schiusura ebbe principio il 27 maggio 1938 ma i bachi non sorpassarono le dimensioni di 2-2,5 cm. nonostante fossero allevati fino al 30 giugno.

Dall'esito totale dell'esperienza e dall'andamento di essa, noi crediamo di essere nel vero asserendo che gli individui sfuggiti all'infezione lo debbano a fattori casuali anzichè ad una intrinseca resistenza. Ciò è evidente maggiormente nel caso di piccoli lotti dove facilmente si raggiunge con una o due inoculazioni la mortalità massima (100 %). Naturalmente questo non esclude la possibilità di una resistenza individuale e tanto meno di variazioni individuali della recettività, solo dimostra che questa possibilità è estremamente rara, se pur c'è.

Discussione dei resultati e conclusioni

Dalle esperienze tutte, precedentemente descritte ed effettuate per la prima volta su così vasta scala di individui, possiamo trarre i seguenti resultati:

1) Il potere patogenetico delle spore di *B. Bassiana* è in relazione ad alcuni fattori vitali del fungo di cui due sicuramente individuati e cioè:

a) germinabilità delle spore o vitalità di esse;

b) mantenimento e conservazione della proprietà enzimatica (proteolitica).

In un certo stadio di vita delle spore questi due fattori appaiono fra loro indipendenti, nel senso cioè che *la perdita del potere enzimatico non coincide con la perdita delle germinabilità o vitalità delle spore stesse, ma è anteriore ad essa.*

Le prove fatte a questo proposito con spore di coltura di 10 mesi di età non possono lasciare dubbi al riguardo. Mentre difatti il trapianto con dette spore in nuovo terreno colturale (terreno Pollacci) era costantemente positivo e positivi erano le germinazioni in microcoltura, le infezioni sia su vasta scala sia su pochi individui controllati erano sempre negative.

3) *Le colture ottenute con spore che abbiano perso il potere patogeno, nel modo sopra indicato, sono per contro alla loro volta capaci di infettare il Bombice.*

L'importanza di questo fatto è evidente poichè sancisce che non è necessario, nel caso e nelle modalità dei nostri esperimenti, il passaggio sull'animale per ottenere l'infezione.

Tuttavia da una parte degli esperimenti sembra che questo potere può essere incrementato con un passaggio sull'animale (esperimenti ceppo M); ciò si verificherebbe principalmente con i ceppi mantenuti da lungo tempo in coltura. Questo dato sembra in contraddizione con alcune esperienze precedentemente esposte nella prima parte del nostro lavoro (Arnaud).

La contraddizione può forse farsi risalire alle diverse modalità di esperienza, o alle diversità di conservazione dei funghi e infine al terreno di coltura usato o a tutte queste cause insieme. Comunque è stabilito anche dalle nostre prove che i molteplici passaggi del fungo sull'insetto, non lo rendono più virulento, mantenendosi la capacità infettiva anche con trapianti in sustrati nutritivi.

Il fatto da noi rilevato, e cioè che spore originatesi in coltura da spore madri che avevano perso il potere patogeno, siano alla loro volta capaci di infettare i bachi, è suscettibile di spiegare le divergenze assai notevoli sulla durata della patogenicità delle spore del calcino, che si sono avute per il passato. Si è visto infatti che fin dai primi ricercatori tale conservazione subisce limiti assai ampi, da un anno fino a cinque anni. Bassi e alcuni autori francesi sono difatti per un lungo periodo di vitalità, mentre l'Haberlandt e il Quaiat sono per un periodo breve di circa un anno. Noi propendiamo a credere che i bachi calcinati conservati per un anno o più, subissero una sorte di camera umida, allorchè questi cadaveri infetti venivano posti fra il fogliame di gelso dato in alimentazione ai bachi in prova. Le spore sarebbero riuscite cioè a germi-

nare parzialmente ed il nuovo micelio sporificando avrebbe dato origine a nuove spore capaci alla lor volta di infettare i bachi. Questo sospetto sarebbe confermato dalla minore mortalità che si ha in questi casi [cfr. le esperienze di Guerin-Meneville e Robert (19)]. D'altro canto la mancanza di precisi elementi delle prove descritte per il passato fanno si che non si possa stabilire con sicurezza le cause delle differenze registrate, mentre per contro le le prove recenti e le asserzioni di sperimentatori di fama indiscussa fanno ritenere nel giusto che la vitalità di spore di *B. Bassiana* non sia superiore ad un anno. Il Masera (36) ha recentemente stabilito qualche cosa di analogo per le spore di *B. globulifera* che conservate per cinque mesi sui cadaveri di larve di *Bombyx mori* in scatola Petri in laboratorio non state capaci d'infettare i bachi, mentre le colture in agar erano positive.

4) Le asserzioni di alcuni scrittori, secondo i quali le spore da coltura sono più virulente di quelle originatesi sui bachi ammalati, apparirebbero in certo modo confermate dalla nostra prova ma essa ci sembra troppo poco probativa.

5) Come la mortalità assoluta e giornaliera non appare incrementata con ceppi passati sull'animale, così il periodo di incubazione della malattia non subisce variazioni in rapporto ai passaggi stessi. Questo invece appare presumibilmente influenzato dalle condizioni esterne (camera umida) e dallo stato di sanità dei bachi.

6) In base alle periodiche e continue infezioni compiute in un anno di esperimento, crediamo di essere nel giusto ritenendo che i bachi che sfuggono all'infezione debbano questo a fattori casuali anzichè ad una intrinseca resistenza, come si era già espresso al riguardo il Vittadini.

7) Da quanto si è detto riteniamo utile scrivere che non ci sentiamo autorizzati ad affermare che possano essere cangiati i concetti pratici di lotta contro il calcino. Se il potere patogeno non è conservato oltre i 10 mesi nelle spore della *B. Bassiana*, non sarà meno necessario di prendere tutte le precauzioni profilattiche consigliate, all'inizio di un nuovo allevamento, nei locali ove si sia manifestato il calcino l'anno precedente. Difatti le spore rimaste possono avere conservato il loro potere germinativo in sustrati organici non viventi o addirittura su sustrati minerali e con la stagione primaverile riprendere a sviluppare e sporificare nuovamente, dando origine a spore capaci alla loro volta di infettare i bachi in allevamento.

8) Il fallimento della lotta contro gli insetti dannosi per mezzo dei miceti può forse trovare un elemento di spiegazione an-

che nella mancanza di virulentazione del fungo con il passaggio sull'animale e nella minore durata del potere patogeno nei confronti della durata della germinabilità delle spore artificialmente diffuse. Difatti solo una piccola parte di queste raggiunge gli insetti, la restante o muore o, perso il potere patogeno, vegeta su sustrati inerti. Le nuove spore così originatesi sarebbero bensì in grado di proseguire l'infezione, ma è evidente che la loro dispersione e diffusione non è più a nostra discrezione. Tutto ciò naturalmente in aggiunta agli ostacoli già noti dell'ambiente esterno e climatico, che fanno sì che il metodo non dia risultati praticamente apprezzabili.

Riassunto

L'A. studia la patogenicità dei due ceppi di *Beauveria Bassiana* (Bals. Crivelli) Vuill. Dopo aver riassunto le nostre cognizioni sull'argomento riferisce sulle esperienze fatte su di un grande numero di individui (40-60 mila individui infettati).

Il potere patogeno dalle spore del fungo risulta in relazione a due attività vitali: germinabilità e potere enzimatico (azione sulla chitina). La perdita del potere enzimatico non coincide con la perdita delle germinabilità ma è anteriore; spore di circa 10 mesi di età ancora germinabili in sustrati agarizzati o liquidi non sono patogene per il baco da seta. Tuttavia le colture originate da queste spore sono alla loro volta capaci di infettare il baco. È evidente che in questo caso non è necessario il passaggio sull'animale per ripristinare il potere patogeno.

I ceppi mantenuti per lungo tempo in coltura sembrerebbero attenuare in certo modo la loro capacità infettiva. Le inoculazioni sperimentali in questo caso mostrano difatti una più bassa percentuale di mortalità. In tali casi un unico passaggio sull'animale è sufficente a ripristinare il potere patogeno *in toto*.

Non risulta dalle prove fatte in proposito che sia probabile una immunità del bombice al calcino. Gli individui che sfuggono all'infezione nelle inoculazioni sperimentali come negli allevamenti lo debbono con ogni probabilità a fattori causali, anzichè ad una intrinseca resistenza.

Sono esposte alcune considerazioni, in base ai resultati ottenuti sulla lotta contro gli insetti a mezzo di funghi entomofiti.

SUMMARIUM

In bombycibus A. expertus est quantam vim ingenerandi morbum habeat *Beauveria Bassiana.*

SUMMARY

Two strains of *Beauveria Bassiana* (Bals. Criv.) Vuill. were tested in regard of the pathogenicity on 40-60.000 individuals of silkworm. The pathogenety of the fungus is related to the germinative power of the conidia as well as to the enzymatic activity on chitine. Conidia 10 months old are capable of culture on agarized or liquid media, but they are unpathogenic for the silkworm. Again the colonies derived from, are yet capable of infection on silkworm without preliminar revirulentation.

Old strains of the fungus ma tained in culture on laboratory media are of weak infective power, determining only a low percent of mortality on silkworm. The revirulentation may be fully effectued by only one passage throughout the insect.

The rôle played by immunitary facts in silkworms as related to the " calcino „ disease appears to be very incertain, also in regard to the individuals escaping from the mass infection, this apparent immunity being due to accidental factors.

A few observations related with the insect control by entomophytic fungi are exposed.

BIBLIOGRAFIA

(1) Acqua C. — Il bombice del gelso, 1930.
(2) Anonimo — I danni arrecati dal calcino. Una statistica impressionante. L'Istria Agricola N. S. VIII, 7, p. 147-151, 1928.
(3) Arnaud M. — Recherches préliminaires sur les champignons entomophytes, Ann. des Epiphyties, XIII, I, p. 1-30, 1927.
(4) Audouin M. — Recherches anatomiques et physiologiques sur la maladie contagieuse qui attaque les Vers à soie et qu'on designe sous le nom de muscardine. C. R. hebd. de l'Acad. de Science, 3, p. 82-89, 1836 e in Ann. Sc. Nat. Zool. 2 S. VIII, p. 229-245, 1837.
(5) — Nouvelles experiences sur la nature de la maladie contagieuse qui attaque les vers à soie et qu'on designe sous le nom de muscardine. Ann. Sc. Nat. Zool. 2 ser., VIII, p. 257-270, 1837.
(6) Balsamo-Crivelli G. — Primi annunci sulla scoperta della Botrytis Bassiana. Gazzetta priv., Milano 17 giugno 1835 e 19 luglio 1835.
(7) — Osservazioni sovra una nuova specie di Mucedinea del genere Botrytis ecc. Biblioteca Italiana 79, p. 126 129, luglio-agosto 1835.
(8) Bassi A. — Il mal del segno e altre malattie dei bachi da seta- Parte I, Teoria, 1835. Parte II, 1836.
(9) — Memoria in addizione alla di lui opera sul calcino. 2 ed., 1837.
(10) — Breve istruzione per evitare il danno che reca il calcino o mal del segno ai filugelli, 1839,
(11) — Il vero e l'utile nell'educazione dei filugelli e dei gelsi, 1845.
(Per le opere di A. Bassi citate e per le altre che qui non si ricordano si veda l'edizione a cura della Soc. Med. Chir. di Pavia, 1925).
(12) Beauverie J. — Les Muscardines. Le genre Beauveria Vuillemin. Rev. gen, Bot, 26, p. 81-105, 156-173, 1914.
(13) Configliacchi e Brugnatelli — Citati da Bassi, 1836.
(14) Conte A. e Levrat D. — Production par la Botrytis Bassiana d'une diastase dissolvante de la soie. Rapports du Lab. d'etudes de la soie. Lione XIII, 1906-1907; rep,: 1909.
(15) Foscarini G. M. — Esperienze e osservazioni sulla malattia dei bachi da seta conosciuta sotto il nome di calcinetto. Bibliot. Ital. XXII, aprile 1821.
(16) Fuschini C. — Bachicoltura, gelsicoltura, 2 ed. 1932.
(17) Grandori R. — Delenda est Botrytis. Boll. Zool. e Bach. I, 1929.
(18) — Il filugello e l'arte di governarlo. Milano 1924.
(19) Guerin-Meneville A. M. — Muscardine. Ann. Soc. Sericicole, 1849 (?), p. 66 (estratto).
(20) Haberlandt F. — Del calcino o mal del segno. La sericoltura austriaca, n. 5, p. 33-35, 1871.
(21) Johannis — De la muscardine. Des moyens de le developper artificiellement, de modifier ou de détruir les effects de la contagion. Ann. Sc. Mat. 2 s. Zool. p. 65, 1839.
(22) Lamarlière (de) L. G. — Le muscardine blanc du Chinchbug en Amerique. Rev. Myc. p. 118-120, 1995.
(23) Langeron M. — Notulae mycologicae. Ann. de parassitol. XVI, 4, p. 374-75, 1983.

(24) Laurent E. — Recherches experimentales sur les maladies des plantes. Ann. Ist. Pasteur XIII, p. 1-48, 1899.
(25) Lefebvre C. L. — A destructive fungous deseases of the Corn borer. Abs. in Phytopath. XXI, I, p. 124-125, 1931.
(26) — Penetration and development of the fungus Beauveria Bassiana, in the tissues of the Corn Borer. Ann. of Botany, XLVIII, p. 442-452, 1934.
(27) Maillot-Lambert — Traité sur le ver à soie du mûrier e sur le murier, 1906 (citato da Acqua).
(28) Masera E. — Un fungo del genere Botrytis parassita degli insetti. Riv. di Biologia XVI, 2, p. 11, 1934 (estratto).
(29) — Fenomeni di antagonismo e antibiosi fra il Bacillus prodigiosus F. e la Beauveria Bassiana Vuill. Ann. Sper. Agr. XV, p. 44 (estratto) 1934 (1935).
(30) — Ad un secolo di distanza dalla nascita delle scienze delle malattie infettive. Ann. St. Bac., Padova XLVIII, p. 9, 1935 (estratto).
(31) — Le malattie del baco da seta secondo il Dandolo, Bassi e Cornalia. Ann. St. Bac., Padova XLVIII, p. 13, 1935 (estratto).
(32) — La « Beauveria globulifera » (Speg.) Picard, parassita del Bombyx mori L. come il precedente p. 381-397, 1935.
(33) — La lotta biologica degli insetti dannosi con l'impiego di miceti patogeni, come il precodente, p. 361-372 (1936).
(34) — Contributo allo studio della virulenza e patogenicità di alcuni entomomiceti, come il precedente, p. 477-491, 1936.
(35) — Le malattie infettive degli insetti e loro indice bibliografico. Cappelli, 1936.
(36) Molliard M. — Production de glycocolle par l'Isaria densa. C. R. Acad. Sc. CLXVII, p. 786-788, 1918.
(37) — L'ovalbumine constitue un aliment complet pour l'Isaria densa. C. R. Acad. Sc. CLXVIII, p. 523-524, 1919.
(38) Montagne M. — Experiences et observations sur le champignon entomoctone, ou histo.re botanique de la muscardine. C. R. Acad. Sc. 3, p. 166-170, 1836.
(39) Paillot A. — Les microorganismes parasites des insectes. Leur emploi en agriculture. Ann. des Serv. des Epiph. 2, p. 188-232, 1915.
(40) — Les maladies bactériennes des insectes, come il precedente, 8, p. 95-276, 1922.
(41) — Pathogénie de la muscardine du ver à soie. C. R. Societé Biol. 1929, (I), p. 353-354.
(42) — Traité des maladies du ver à soie. G. Doin. Paris 1930.
(43) — L'infection chez les insectes. Immunité et symbiose, 1933.
(44) Perroncito E. e Saglietti — Esperimenti sulla tenacità di vita delle forme di fruttificazione della Botrite del calcino dei bachi. (Comun. R. Accad. Agric. Torino) in Boll. Mens. di Bachicoltura. Padova, s. 2, an. 8, n. 6, p. 95-96, 1890.
(45) Petch T. — Studies in entomogenous fungi. VIII. Notes on Beauveria. Trans. Britisch. Mycol. Soc. X, p. 244-371, 1924.
(46) Picard F. — Les champignons parasites des insectes et leur utilisation agricole. Ann. Ecole Nat. Agr. Montpellier, XIII, n. s. p. 121-248, 1913.
(47) Pollacci G. e Nannizzi A. — I miceti patogeni dell'uomo e degli animali descritti e delineati per l'osservazione al microscopio, 1922.

(48) — Trattato di Micopatologia. IV. Repertorio sistematico dei miceti dell'uomo e degli animali, 1934.
(49) Quaiat E. — Ricerche sperimentali sul calcino. Padova Tip. Penada, 1897.
(50) Quaiat e Rossinski D. — Sul calcino. Boll. mens. Bachic. Padova X, n. 6-7-8, p. 77-119, 1892.
(51) Robin C. — Histoire naturelle des vegetaux parasites ecc. Baillière, Parigi, 1853.
(52) Robinet — La muscardine; des causes de cette maladie et des moyens d'en preserver les vers à soie. Ed. Millet e Robinet, Parigi, 1843.
(53) Siemaszko W. — Studia nad grzybami owadobojczemi polski Arch. Nauk. Biol. VI, p. 1-82, 1937. (cf. Rev. App. Myc. XVI, 531, 1937).
(54) Toumanoff C. — Action des champignons entomophytes sur la pyrale du mais (Pyrausta nubilalis Hün) Ann. Parassit. Hum. et comparée, XI, 2, p. 128-153, 1933.
(55) — Action des champignons entomophytes sur les abeilles Ann. Parassit. Hum. et Comp. IX, 5, p. 462-482, 1931.
(56) Turpin — Observations sur le Botrytis de la muscardine. C. R. Acad. des Sc. Parigi, 3, p. 170-173, 1836.
(57) Verson E. — Il filugello e l'arte di governarlo, Milano, 1917.
(58) Vittadini C. — Risultati di alcuni esperimenti istituiti sul baco da seta e sopra altri insetti allo scopo di chiarire la vera causa del calcino. Giorn. dell'Ist. Lombardo di scienze, lettere e arti, II, p. 305, 1851.
(59) — Della natura del calcino o mal del segno. come per il precedente, III, p. 143-208, 1851.
(60) — Dei mezzi di prevenire il calcino o male del segno nei bachi da seta. come per il precedente, IV, p. 331-378, 1852.
(61) Voukanovitch P. — Contribution à l'etude d'un champignon entomophyte Spicaria farinosa (Fries) var. verticiiloides. Ann. Serv. Epiph. XI, p. 73-120, 1925.
(62) Vuillemin P. — Beauveria, nouveau genre de Verticilliacées. Bull. Soc. Bot. France, t. LVIII (4 s. t. XI), p. 34-40, 1911.
(63) Bresciani G. — Sulla virulentazione dei miceti. Giornale di Biologia e medicina sperimentale, I, fasc. 14-15, 1924.
(64) — Sulla virulentazione dei miceti. Rivista di Biologia, VI, fasc. 3, 1924.

TAVOLA I. — Inoculazione con ***B. Bassiana*** Ceppo I

Data d'inoculazione: 17 e 22 maggio 1937 (1)

Passaggi sull'animale: *nessuno*

Data	MORTALITÀ NEI LOTTI (2)									Mortalità totale	Mortalità in %	Mortalità progressiva in %
	1	2	3	4	5	6	7 (2)	8 (2)	9			
24 maggio	21	24	38	37	31	72	19	23	13	278	31,7	31,7
25 maggio	56	73	43	42	37	17	33	45	19	365	41,6	73,3
26 maggio	12	3	8	14	10	6	14	9	28	104	11,8	85,1
	89	100	89	93	78	95	66	77	60	737	85,1	

(1) Non sono presi in considerazione i morti in seguito alla 2e inoculazione.

(2) Ogni lotto contiene 100 bachi, ad eccezione del n. 7 che ne ha 92 e del n. 8 che ne ha 84. Il numero totale dei bachi è di conseguenza: 876.

TAVOLA II. — Inoculazione con ***B. Bassiana*** Ceppo I

Data d'inoculazione: 1 giugno 1937

Passaggi sull'animale: *uno*

Data	MORTALITÀ NEI LOTTI							Mortalità totale	Mortalità in %	Mortalità progressiva in %
	1	2	3	4	5	6	7			
7 giugno	11	13	10	15	15	9	36	109	17,4	17,4
8 giugno	32	36	49	38	43	47	43	288	46,0	63,4
9 giugno	23	15	17	16	9	24	21	125	19,9	83,3
11 giugno	21	7	10	13	12	6	2	71	11,3	94,6
16 giugno	1	1	1	3	—	3	2	11	1,7	96,3
	88	72	87	85	79	89	104	604	96,3	
sopravissuti	5	5	3	6		2	1	22		
Totale dei bachi in esperimento . .								626		

TAVOLA III. — Inoculazione con ***B. Bassiana*** Ceppo I

Data d'inoculazione: 1 giugno 1937

Passaggi sull'animale: *nessuno* (controlli delle inoculaz. della Tav. 2)

Data	Mortalità nei lotti		Mortalità totale	Mortalità in %	Mortalità progressiva in %
	1	2			
7 giugno	29	15	44	28,3	28,3
8 giugno	39	19	58	37,4	65,7
9 giugno	13	16	29	18,7	84,4
11 giugno	3	12	15	9,6	94,0
16 giugno	—	3	3	1,9	95,9
	84	65	149	95,9	
sopravissuti	—	6	6		
Totale bachi in esperimento .			155		

TAVOLA IV. — Inoculazione con ***B. Bassiana*** Ceppo I

Data d'inoculazione: 16 giugno 1937

Passaggi sull'animale: *due*

Data	MORTALITÀ NEI LOTTI							Mortalità totale	Mortalità in %	Mortalità progressiva in %
	1	2	3	4	5	6	7			
23 giugno	23	10	17	20	28	13	18	129	24,2	24,2
24 giugno	5	1	5	5	7	2	5	30	5,6	29,8
25 giugno	6	4	2	7	11	3	2	36	6,7	36,5
28 giugno	20	20	21	30	36	12	22	161	30,2	66,7
30 giugno	7	4	5	11	13	8	2	50	9,3	76,0
9 luglio	23	24	19	18	12	10	8	114	21,4	97,4
	84	63	70	91	107	48	57	520	97,4	
sopravissuti	3	2	5	4	1	—		15		
Totale bachi in esperimento								535		

TAVOLA V. — Inoculazione con ***B. Bassiana*** Ceppo M

Data d'inoculazione: 17 e 22 maggio 1937 (1)

Passaggi sull'animale: *nessuno*

Data	MORTALITÀ NEI LOTTI (2)							Mortalità totale	Mortalità in %	Mortalità progressiva in %
	1	2	3	4	5	6	7			
24 maggio	2	1	4	1	2	1	1	12	1,7	1,7
25 maggio	16	10	5	4	11	11	16	73	10,4	12,1
26 maggio	2	3	4	4	5	3	6	27	3,9	16,0
	20	14	13	9	18	15	23	112	16,0	

(1) Non sono presi in considerazione i morti in seguito alla 2ª inoculazione.
(2) Ogni lotto contiene 100 bachi.

TAVOLA VI. — Inoculazione con ***B. Bassiana*** Ceppo M

Data d'inoculazione: 16 giugno 1937

Passaggi sull'animale: *uno*

Data	MORTALITÀ NEI LOTTI							Mortalità totale	Mortalità in %	Mortalità progressiva in %
	1	2	3	4	5	6	7			
23 giugno	18	39	27	22	12	23	5	146	27,4	27,4
24 giugno	10	9	13	7	7	8	9	63	11,8	39,2
25 giugno	5	4	10	6	5	4	8	42	7,8	47,0
28 giugno	7	15	26	20	18	19	13	118	22,1	69,1
30 giugno	10	5	8	12	7	10	6	58	10,9	80,0
9 luglio	10	6	8	10	21	18	17	90	16,9	96,9
	60	78	92	77	70	87	58	517	96,9	
sopravissuti	1	—	—	3	1	5	5	15		
Totale bachi in esperimento								532		

TAVOLA VII. — Inoculazione con ***B. Bassiana*** Ceppo M

Data d'inoculazione: 16 giugno 1937

Passaggi sull'animale: *nessuno* (controlli delle inoculaz. della Tav. 6)

Data	Mortalità giornaliera	Mortalità in %	Mortalità progressiva in %
23 giugno	15	7,5	7,5
24 giugno	9	4,5	12,0
25 giugno	10	5,0	17,0
28 giugno	42	21,0	38,0
30 giugno	18	9,0	47,0
9 luglio	30	15,0	62,0
	124	62,0	
sopravissuti	76		

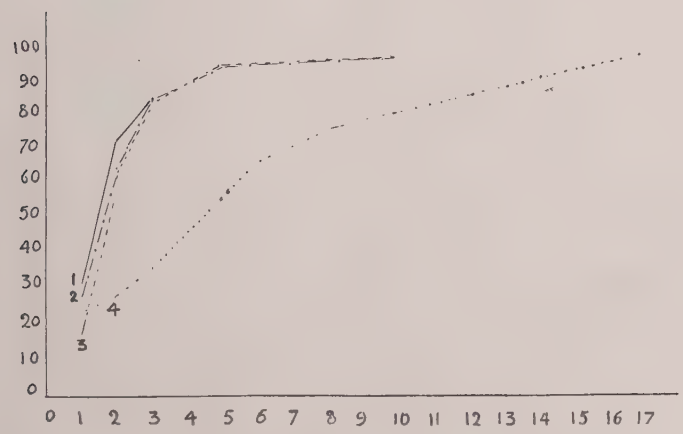


Grafico N. 1 — Ceppo I

Per la lettura del grafico si osservi che la linea 1 corrisponde alla tab. I; la 2 alla tab. III; la 3 alla tab. II, e la 4 alla tab. IV.

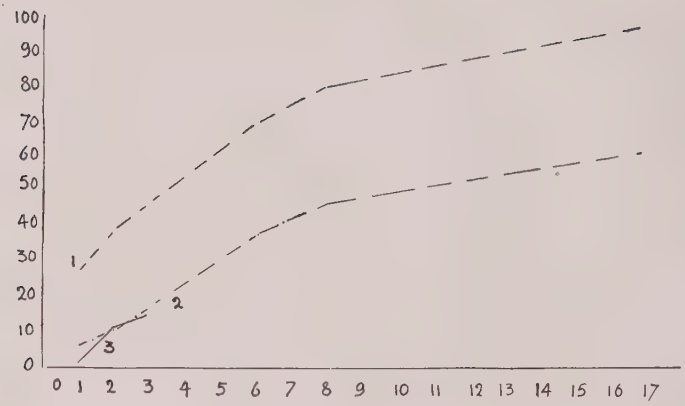


Grafico N. 2 — Ceppo M

Per la lettura del grafico si osservi che la linea 3 corrisponde alla tab. V; la linea 1 alla tab. VI, e la linea 2 alla tab. VII.

TAVOLA VIII. — Inoculazione con ***B. Bassiana*** Ceppo M

Data d'infezione: 26 maggio e 6 giugno 1938

Razza « Oro chinese » — Passaggi sull'animale: *nessuno*

DATA	Mortal. nei lotti [1]				Mortalità in %	Mortalità progressiva in %
	1	2	3	4		
8 giugno	4	2	4	2	1,2	1,2
9 giugno	1	1	—	—	0,2	1,4
10 giugno	3	—	1	—	0,4	1,8
11 giugno	2	1	4	1	0,8	2,6
13 giugno	61	59	88	67	27,5	30,1
14 giugno	59	25	21	13	11,8	41,9
15 giugno	11	2	9	3	2,5	44,4
16 giugno	4	—	—	—	0,4	44,8
20 giugno	44	52	56	64	21,6	66,4
	189	142	183	150	66,4	
bozzoli raccolti	53	63	46	65		
bachi perduti	8	45	21	35		
Totale	250	250	250	250		

[1] Ogni lotto contiene 250 bachi.

TAVOLA IX. — Inoculazione con ***B. Bassiana*** Ceppo M
Data d'infezione: 8 giugno 1938
Razza « Bianco Italia » — Passaggio sull'animale: *nessuno*

DATA	Mort. dei lotti		Mortalità giornaliera	Mortalità progressiva	Mortalità in %
	1	2			
13 giugno	42	23	65	65	13,0
14 giugno	57	46	103	168	33,6
15 giugno	34	27	61	229	45,8
16 giugno	28	26	54	283	56,6
17 giugno	3	2	5	288	57,6
18 giugno	3	6	9	297	59,4
20 giugno	3	4	7	304	60,8
22 giugno	1	2	3	307	61,4
	171	136	307		
bachi in esperimento	250	250	500		

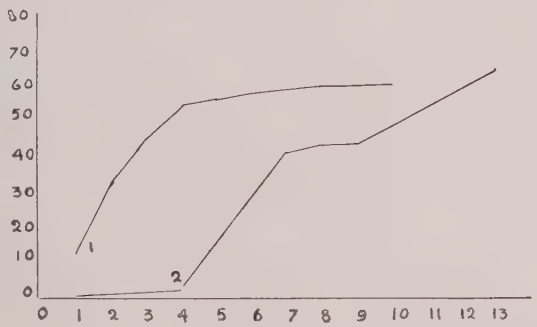


Grafico N. 3 — Ceppo M

La linea 1 corrisponde alla tab. IX, e la linea 2 alla tab. VIII.

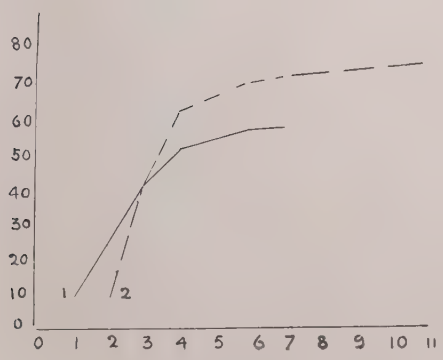


Grafico N. 4 — Ceppo M

La linea 1 corrisponde alla mortalità con spore da bachi calcinati; la linea 2 a quella con spore da colture (età 7 giorni, cfr. tab. X).

TAVOLA X. — Inoculazione con ***B. Bassiana*** Ceppo M

Data d'infezione: 15 giugno 1938

Data	Razza *Bianco Italia* (4ª età) inoculata:				Razza *Oro chinese* (3ª età) inoculata:			
	Ceppo M età 10 mesi	Ceppo M età 7 giorni	Mortalità progressiva	Mortalità in %	Ceppo M età 10 mesi	Ceppo M (da bachi)	Mortalità progressiva	Mortalità in %
22 giugno	nessuna larva calcinata (1 *f*)	—	—	—	nessuna larva calcinata (1 *f*)	26 *c* + (2 *f*)	26	9,6
23 giugno	(1 *f*)	14 *c* + (2 *f*)	14	8,2	(1 *f*)	38 *c* + (6 *f*)	64	23,7
24 giugno	(1 *f*)	57 *c* + (4 *f*)	71	41,7	(2 *f*)	47 *c* + (2 *f*)	111	41,1
25 giugno	—	36 *c* + (3 *f*)	107	62,9	(1 *f*)	28 *c* + (1 *f*)	139	51,4
27 giugno	(5 *f*)	13 *c*	120	70,5	(4 *f*)	13 *c*	152	56,6
28 giugno	(3 *f*)	2 *c*	122	71,7	(1 *f*)	2 *c*	154	57,0
30 giugno	(1 *f*)	2 *c*	124	73,5	(2 *f*)	— + (5 *f*)	—	—
2 luglio	(6 *f*)	3 *c* + (1 *f*)	127	74,7	(3 *f*)	—	—	—
Totale . .	(18 *f*)	127 *c* + (10 *f*)			(15 *f*)	154 *c* + (16 *f*)		
raccolto bozz.	31	18			[L'esperimento è abbandonato prima della formazione dei bozzoli]			
b. perduti	50	15						
bachi in esp.	89	170			250	270		

legenda: *c* = bachi calcinati; *f* = bachi morti per cause diverse.

TAVOLA XI. — Sviluppo in coltura (colonie giganti) della ***B. Bassiana*** in rapporto all'età e alla provenienza delle spore

	Diametro delle colonie in mm. dopo:				
	24 ore	3 giorni	5 giorni	7 giorni	9 giorni
Colture con spore di 10 mesi di età da colt.	—	2-3	4 × 5	12 × 15	20 × 20
Colture con spore di 7-10 g. di età da colt.	4-5	8-10 (con coloniette attorno)	15 (c. p.)	25 × 23	32 × 30
Colture con spore di 3-4 g. da baco calcinato, in camera umida	traccie	5	13	20 × 20	29 × 30

TAVOLA XII. — Sviluppo in microcoltura (goccia pendente) della ***B. Bassiana*** in rapporto all'età e alle provenienza delle spore

	Germinazione delle spore dopo:					
	24 ore		3 giorni		5 giorni	
	in acqua peptogluc.	in Raulin	in acqua peptogluc.	in Raulin	in acqua peptogluc.	in Raulin
Colture con spore di 10 mesi di età da coltura	+	—	scarsa	Molto scarsa con brevi filamenti promicelici	c. p. il precedente	
Colture con spore di 7-10 g. di età da coltura . .	+,—	—	abbondante con filam. promicelici lunghissimi	scarsa con brevi filamenti	c. p. il precedente	
Colture con spore di 3-4 giorni di età da baco calcinato, in camera umida	—	+,---	scarsa	abbondante con filam. promicelici lunghissimi	c. p. il precedente	

R. UNIVERSITÀ DI PAVIA
ISTITUTO BOTANICO « GIOVANNI BRIOSI »
E
LABORATORIO CRITTOGAMICO ITALIANO
DIRETTI
dal Prof. **GINO POLLACCI**

CONTRIBUTO ALLA SISTEMATICA DEGLI ATTINOMICETI

V-VIII.

Actinomyces albus, A. chromogenus, A. odorifer, A. thermophylus, A. viridis, A. viridochromogenus, A. hominis, A. innominatus.

del Prof. Dott. **ELIO BALDACCI**

Vicedirettore del R. Laboratorio Crittogamico di Pavia

(con 13 figure)

V. — *Actinomyces albus* . . . . . pag. 192
Notizie storiche . . . . . » 192
PARTE SPERIMENTALE
Origine e provenienza dei ceppi . . . . . » 196
Caratteri morfologici . . . . . » 197
Caratteri colturali . . . . . » 201
Caratteri biochimici . . . . . » 205
Discussione, sinonimia e diagnosi . . . . . » 206
VI. — *Actinomyces chromogenus, Act. odorifer* e *Act. thermophylus* . . . . . » 215
VII. — *Actinomyces viridis* . . . . . » 220
VIII. — *Actinomyces hominis, Actinomyces innominatus* , . . . » 223
Riassunto . . . . . » 225
Summarium . . . . . » 226
Summary . . . . . » 227
Bibliografia . . . . . » 227

CONTRIBUTO ALLA SISTEMATICA DEGLI ATTINOMICETI

V.

Actinomyces albus

Notizie storiche

Il termine specifico " *albus* „ è usato per la prima volta da Rossi-Doria (38) per designare un attinomicete di cui stabilisce oltre le caratteristiche colturali, anche la sinonimia con le specie anonime di Almquist (2) e con la *Streptothrix* isolata dall'aria da Gasperini (20) (1890). Quest'ultimo aveva a sua volta identificato il suo ceppo come *Streptothrix Foersteri*, descritta da F. Cohn (11), ma il Rossi-Doria (38) rifiuta tale identità criticandola: " Nulla nella descrizione fatta da Cohn può giustificare questa idea. In quella descrizione non si hanno infatti che caratteri generici e di caratteri specifici non v'è neppure l'ombra „. Sta di fatto che il Cohn non riuscì a coltivare la *Streptothrix Foersteri*, e ne dette solo i caratteri osservati in situ, caratteri che vennero riportati dai vari trattatisti. Così De Toni e Trevisan (13) ricordano la specie con la diagnosi latina sotto *Nocardia Foersteri*. È noto altresì come più tardi Pinoy (35) indicasse questo attinomicete come il tipo di un nuovo genere: *Cohnistreptothrix*. Riteniamo pertanto che esso non debba essere preso in considerazione, circa le affinità o identità con l'*Act. albus*, come aveva osservato Rossi-Doria. L'esame di questa specie ci porterebbe difatti a studiare i rapporti che il genere *Cohnistreptothrix* ha con *Actinomyces* e con *Actinobacterium*, e per i quali rimandiamo a quanto abbiamo già scritto [Baldacci, 3] (1939).

L'attinomicete descritto da Gasperini (20) deve quindi considerarsi senza nome fino a che Rossi-Doria propone, come si è detto, il termine *Actinomyces albus*, includendovi anche le tre specie di Almquist (2) non specificate e descritte quasi contemporaneamente. La descrizione di Gasperini è molto accurata; di essa riassumiamo le principali caratteristiche nella tavola I. Le tre specie di Almquist diversificano ben poco fra di loro secondo quanto è detto dall'A. Ma poichè per la specie n. 1, Almquist parla di formazione di una crosta bianca che con il tempo diviene grigia, è forse opportuno escludere tale specie dalla sinonimia con l'*Act. albus*.

L'affermaziane di Rossi-Doria (38, p. 404) che " la *Streptothrix*... nei diversi stadi e nei successivi passaggi presenta i caratteri delle 3 specie di Almquist „, ci lascia piuttosto perplessi sulle osservazioni di Rossi-Doria stesso. D' altro canto poichè il Rossi-Doria rinuncia a descrivere il suo isolamento rimandando ai caratteri colturali dei ceppi di Gasperini e di Almquist, è giocoforza accettare il termine di *albus* per le specie di questi AA.

Particolarmente il Gasperini (20) (1894) ritorna a descrivere attentamente l'*Act. albus* per distinguerlo dall'*Act. chromogenus*, che possiede caratteristiche tintoriali della colonia non sporificata e il cui pigmento è diffusibile al sustrato. Di questa specie diremo al capitolo VI.

Successivamente il Krainsky (24) nelle sue ricerche sugli attinomiceti, torna a descrivere l'*Act. albus*, avendolo nuovamente isolato da un terreno di giardino. In riassunto le colonie di questo ceppo si presentano ben sviluppate, con una vegetazione bianca, che diviene grigia in agar glucosio e in brodo di gelatina, il micelio aereo apparisce presto, ed il micelio vegetativo è incoloro. Su peptone, e brodo agarizzato il micelio aereo non si forma che in strato sottile. Presenta spore ovali di 1 μ; fluidifica la gelatina; non è cromogeno; riduce i nitrati; non ha azione diastasica in amido.

Anche Waksman (46) illustra nel suo lavoro l'*Act. albus*, isolato da diversi terreni e per il quale osserva che se somiglia sotto certi aspetti a quello descritto da Krainsky e altri AA., è dubbio che sia lo stesso organismo descritto dal Krainsky. Pertanto egli ne emenda la diagnosi. Anche per la descrizione data da Waksman, si osserva che il micelio aereo si presenta talora bianco o grigio secondo i sustrati, mentre il micelio vegetativo varierebbe da bianco o più spesso grigio. Le spore sono di 1,2-1,6 μ per 1,1-1,4 μ; riunite in spirali corte e rare; l'attinomicete non è cromogeno, ha azione distasica, riduce i nitrati, liquefà la gelatina.

Anche il Jensen (23) riferendo a questa specie alcuni ceppi, isolati dal terreno, si discosta dall' originaria interpretazione della specie stessa. L' A. segna difatti un " ? „ accanto alla nomenclatura. Colturalmente il micelio aereo è costantemente bianco, mentre il micelio vegetativo è color crema o giallo-ocra. Dal punto di vista morfologico invece l'attinomicete secondo Jensen produce spore rettangolari di 0,4-0,5 per 2-4 μ. Alla originaria descrizione si tengono Pollacci e Nannizzi (36) e Puntoni (37); per contro Drechsler (14) identificherebbe la *Str. alba* Rossi-Doria con l'*Act. griseus* (Krainsky) emend. Waksmann e Curtiss, e ciò sulla base delle descrizioni.

Agli attinomiceti del " gruppo albus „ dedica il Duchè (17) un grosso volume, comparso nel 1934. Dobbiamo premettere che noi rifiutiamo senz'altro la designazione di " gruppo „, sistematicamente priva di significato, come hanno pure fatto rilevare Millard e Burr (31) a proposito dei ceppi patogeni della patata (" il cosidetto gruppo *scabies* „). Difatti se le specie che si riuniscono in " gruppo „ sono ben delimitabili esse possono e debbonsi riunire in sottogeneri; se non lo sono si deve parlare di varietà, sottospecie ecc. Se poi si vuole intendere con gruppo dell'*albus* quelle specie che hanno micelio aereo bianco in cultura, esse sono assai più di quelle descritte da Duché, mentre non vi trovano posto le specie *viridis* e quelle che mostrano analogie con il *flavus*. Analoghe osservazioni si debbono fare sui " gruppi più importanti „ secondo la opinione del Duché: così il *chromogenus* non esiste perchè come dimostreremo nel corso del lavoro la specie è sinonima di *A. albus* e la caratteristica cromogena è comune a molte specie. Il gruppo *bovis* non esiste perchè la specie è annullata. Il gruppo *asteroides* è invece una specie ben definita e non fa parte del g. *Actinomyces*. Infine l'*Actinomyces albus* è una specie ben caratterizzata che non permette confusioni con altre mentre nel gruppo *albus* secondo Duché, sono comprese 18 specie, di cui ben 15 sono specie nuove, fra le quali l'*Act. viridis* e l'*albidoflavus* e l'*alboflavus*. Ma sopratutto deboli ci sembrano i criteri di studio accettati da questo A., che basa la sua classificazione dall'aspetto e dalla forma dei talli in coltura, su terreno di Czapek, usato come terreno standard (più o meno modificato). Gli aspetti e le dimensioni delle colonie o talli come preferisce chiamarli l'A., non possono costituire a nostro avviso elementi certi di classificazione influenzati come sono dalla diversità del sustrato, dal contenuto in acqua di condensazione, dallo sviluppo più o meno rapido del microrganismo, dal materiale d'innesto, ecc. Per altro trascurato e quasi ridotto per importanza è lo studio morfologico degli attinomiceti, anche se egli distingue nella parte generale ben 5 (!) forme di sporificazione. Non una di queste strutture appare in definitiva adottata come criterio di studio sistematico. Quelle che l'A. chiama artrospore irregolari non sono altro che le vecchie spore di fragmentazione la cui importanza e la cui funzione è stata già brillantemente studiata e risolta in termini negativi da Drechsler (14) e da Orskov (33). Non ben illustrate e di discutibile significato sono le piccole masse (clave degli antichi AA.?) che si fragmenterebbero in microartrospore. Le " spore laterali „ appaiono come rigonfiamenti apicali dei filamenti micelici. Non è compreso il nesso fra filamenti aerei

e spirali e spore che vi si producono, quando gli studi di Drechsler, pure citato in bibliografia, e quelli di Waksman, di Orskov, ne avevano così esaurientemente dimostrato la funzione. Tuttavia qualche dubbio in proposito deve essere pur venuto in mente all'A., che pensa di definire i talli, l'insieme dei filamenti provenienti dallo sviluppo dell'entospora (spora del micelio aereo). È vero che aggiunge che i talli possono avere origine anche dall'artrospora, ciò che vale a dire in definitiva che un qualunque frammento di micelio è valido per la riproduzione e moltiplicazione colturale. Ma allora perchè parlare di talli " monospermi „! Tanto più che il metodo da lui adottato è quello delle diluizioni successive e non già quello degli isolamenti monosporici. Ma il Duché forte di aver rilevato l'impurezza di alcuni ceppi, generalizza con facilità questo stato di fatto, fino ad accusare di impurità tutte o quasi le colture che furono oggetto di studio dei primi ricercatori. Oltre le varie lacune bibliografiche citate e quelle che diremo a proposito della specie *Act. viridis*, data dal Duché come nuova specie, mentre ne esistevano altre due precedenti descrizioni, contraddizioni e imprecisioni non mancano per le altre specie. Così dopo aver documentato le varie interpretazioni della specie *A. albus* e avere scritto a pag. 224, che la descrizione di Waksman " ne correspond pas tout à fait aux type *albus* de Gasperini, Rossi-Doria, Krainsky „, comparando il proprio ceppo con quello dei precedenti, conclude (pag. 265): " L'espèce de Waksman et Curtiss semble posseder toutes les propriétes de celle de Krainsky... Notre espéce ressemble aux deux precedentes „. Ciò che per una specie che vorrebbe essere monosporica è un bel fatto, quando lo stesso Waksman, come si è visto, trovava dubbia l'identità del suo ceppo con quello di Krainsky.

Altri rilievi saranno fatti quando occorra. In definitiva il lavoro del Duché non ci sembra abbia raggiunto lo scopo di illustrarci la specie *Act. albus* come era nelle premesse, dopo una documentazione che mirava a dimostrare le diversità d'interpretazione della letteratura precedente. Quanto alle altre numerose specie create dal Duché, ci limitiamo a prenderne atto ritenendo che solo l'esame diretto con criteri morfo-colturali assai diversi da quelli usati dall'A. potrà darne una conferma precisa, mentre di alcune diremo più avanti (*).

(*) Ricordiamo inoltre il lavoro di Mennonna (Boll. Sier. Mil. XIII, 8, 1934) che afferma l'esistenza di una forma filtrabile di *A. albus*.

PARTE SPERIMENTALE

Origine e provenienza dei ceppi:

Diamo qui a seguito le notizie interessanti l'origine e la provenienza dei ceppi sperimentati, contrassegnandoli con una sigla per la loro facile designazione nel testo:

Mc 1 etichettato *Act. albus* e presente nella Micoteca del nostro laboratorio.

Mc 2 etichettato *Act. bovis*, c. il precedente.

Ba 1 etichettato *Act. bovis* e ricevuto dal Centraalbureau voor Schimmelcultures di Baarn (Olanda). È lo stesso ceppo studiato da Puntoni (37) con l'indicazione " ceppo n. 18 „).

O 1 etichettato *Act. albus* e ricevuto dal Dott. Olah, della clinica Dermosifilopatica di Debracen (Ungheria).

O 3 etichettato *Act. sp.* e ricevuto come per il precedente.

O 5 etichettato *Act. Lieskei* e ricevuto come per il precedente (*).

O 6 etichettato *Act. sp.* e ricevuto come per il precedente.

AP 1 etichettato *Act. bovis* e presente nella collezione del nostro laboratorio. Fu inviato in esame dal Prof. R. Parrino, dell'Istituto Igiene della R. Università di Palermo.

M 1 etichettato *Act. bovis* e ricevuto dalla Clinica Dermosifilopatica della R. Università di Milano.

C 13 R 5 etichettato *Actinodiscomyces bovis*, ceppo Ronchi. Ricevuto dal Prof. P. Redaelli, direttore dell'Istituto di Anat. Pat. della R. Università di Pavia, e studiato precedentemente dal Cortese (12) che lo descrisse come *Act. albus* n. varietas. Da questo A. il ceppo fu particolarmente usato per le ricerche sulla estrazione di una porfirina dalle colture.

C 14 etichettato *Act. albus*, e ricevuto dal Cortese (12), che a sua volta lo ebbe da Puntoni (37).

R 1 etichettato *Act. sp.*, ceppo Moncasa e ricevuto dal Prof. P. Redaelli, Direttore Ist. Anat. Patologico, Pavia.

R 3 C 6 etichettato *Streptothrix albo-flava* della raccolta Sanfelice e ricevuto dal Prof. Cortese (12), che lo identificò come *Act. albus.*

(*) Ignoro se tale indicazione indica un ceppo della collezione di Lieske, o se fa riferimento alla specie di Duchè (17). Esso è diverso tuttavia dall'*Asteroides Lieskei* Puntoni e Leonardi (37).

IP 30 isolato da noi stessi in un inquinamento di una coltura di *Act. Bostroemi* Bald.

B 1062 etichettato *Act. bovis* e ricevuto dall'Istituto O. Cruz di Rio de Janeiro (Brasile) ed isolato da attinomicosi bovina nel Brasile.

AF 2 etichettato *Act. asteroides* e presente nella collezione del Laboratorio.

AF 3 come il precedente.

AF 4 come il precedente.

AU etichettato *Act. aureus* e presente nella collezione del nostro Laboratorio.

SA etichettato come *Act. Sannini* (Cif.) Westerd. e ricevuto dal C. S. Baarn (Olanda). La specie fu isolata e descritta da Ciferri (10) (1922).

FA etichettato *Act. farcinicus* e ricevuto dal C. S. Baarn, che a sua volta lo ebbe da Ist. Pasteur di Parigi.

LB senza etichetta e ricevuto dal Prof. Lucchetti, dell'Ist. di Pat. Vegetale della R. Università di Pisa. È stato isolato da bile umana.

N 7 (R) isolato da noi stessi da intestino delle Termiti (Baldacci, 1938).

S isolato da legno attaccato da Termiti.

O 2 etichettato *A. odorifer* e ricevuto dal Dott. Olah, della clinica dermosifilopatica di Debracen (Ungheria).

S il etichettato *Nocardia silvodorifera* e ricevuto dal Prof. Redaelli, che a sua volta lo ebbe dalla Scuola di Sanità di Firenze.

Caratteri morfologici

Metodo. - Sono stati seguiti vari metodi nello studio della morfologia dei ceppi. Il metodo consigliato da Orskov (33) che consiste nell'osservazione di colture fatte su sottili strati di agar, è pressochè identico a quello indicato nei manuali come metodo di Revalier-Seydel e permette facile osservazione. Per ottenere una maggiore facilità di manipolazione (colorazione, osservazione diretta, microfotografia) è consigliabile il metodo detto di Unna. Noi abbiamo fatto uso di grosse provette, in cui erano posti uno o due vetrini portaoggetti; le provette erano poi riempite per i due terzi dell'altezza dei vetrini, con una soluzione nutritiva (Czapek al nitrato, acqua peptoglucosata). Seminate con l'attinomicete, le colture erano mantenute in termostato a 25° C. per 2-3 mesi, lasciando che la soluzione evaporasse lentamente, e che le coloniette dell'attinomicete, che vi cresceva immerso o in superficie, aderis-

sero al vetro. Con poche prove preliminari è facile stabilire il giusto tempo di permanenza in termostato delle colture. Quando i vetrini portaoggetti si tolgono, sono posti ad asciugare a 25° C. per 24 ore e successivamente fissati con alcool. Il materiale così ottenuto può essere osservato direttamente o colorato. Altro metodo da noi usato è quello consigliato e effettuato da Drechsler (14), e che consiste nell'impressione con fragmenti di coltura sporificata su fissativi di albumina. Noi abbiamo adoperato gelatina glicerinata. Si possono ottenere anche delle impronte di spore e di catenelle sporifere, dato il particolare sviluppo in forma polverulenta della vegetazione aerea degli attinomiceti, su vetro polito senza alcun

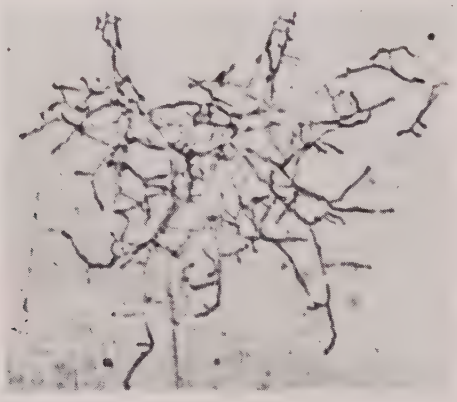


Fig. 1 — Colonia iniziale di *Actinomyces albus*.

fissativo. I vetrini vengono poi fissati alla fiamma e con alcool, e colorati. Tutti i metodi indicati permettono la facile osservazione delle spore e della disposizione nei filamenti. Ma la struttura delle spirali è particolarmente visibile con il metodo di Unna, mentre negli altri metodi l'osservazione si limita a costatare le traccie delle spirali in posizione orizzontale (anelli o uncini).

Osservazioni - Si osservano due tipi di micelio. Il primo ialino, non settato di meno di 1 μ di diametro, ramificato, più o meno abbondantemente, con andamento ondulato ma non serpentoide (fig. 1 e 2). Le ramificazioni partono sempre perpendicolarmente dal punto d'inserzione, ma possono proseguire subito in altra direzione od assumere andamento ondulato. Questo micelio si origina direttamente dalla germinazione delle spore (vedi più oltre) e

può essere più o meno abbondante; in coltura corrisponde alla prima vegetazione contraddistinta come " micelio del sustrato „. Il secondo micelio è discretamente più visibile del primo e di diametro maggiore, di 1 μ e più (1,1-1,4 μ); subialino con tendenza ad assumere toni giallognoli. Questo micelio porta rami fertili, abbondanti, scarsamente ramificati, come hanno già osservato AA. precedenti, che all'estremità s'incurvano a uncino e successivamente si fanno spiralati (fig. 3-4). Questo micelio corrisponde in coltura alla comparsa di una vegetazione bianca, soprastante la precedente, e che con il tempo si fa d'un colore bianco sporco e biancolatte, polve-

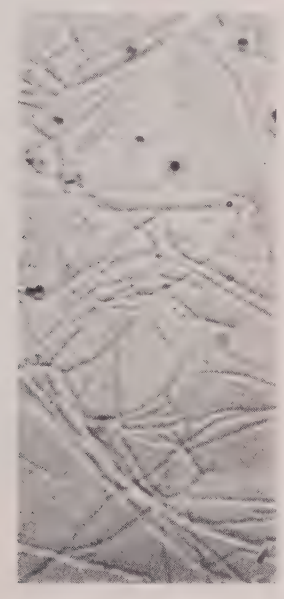


Fig. 2 — Micelio vegetativo di *Act. albus.*

rulenta o crostosa. Essa è indicata come micelio aereo. Sono i rami di questo micelio che danno inizio alla formazione delle spore (fig. 5-6) le quali si ottengono per segmentazione e successiva divisione del setto simulante una contrazione.

Le spore sono corte, di forma ovoidale sebbene non manchi un certo polimorfismo, presentandosi talora a bastoncino fino ad ovoidee. Nei preparati (fig. 10, 11) si osservano con facilità forme rotonde ma esse si devono interpretare come spore viste in proiezione verticale. Le dimensioni delle spore vanno da 0,6-0,7 $\times$ 1,2 μ. Secondo le nostre osservazioni esse sono cioè più piccole di quanto

osserva il Jensen, e più lunghe di quanto scrive il Drechsler. Ma a parte il fatto che la specie di questo ultimo non si è certi che corrisponda all' *albus*, la difficoltà di un accordo sulla forma e sulla misura delle spore non sta come asserisce il Duché nella piccolezza di queste, ma nel momento in cui vengono effettuate le misure e le osservazioni. Quando le spore sono riunite in catenelle nell'ife esse appaiono più lunghe e rettangolari (fig. 8, 9) se si misurano allorchè sono sparse nel preparato (fig. 10, 11) allora appaiono più brevi. È naturale pertanto che solo le forme e le dimensioni di quest' ultimo caso sono da accettare come definitive, mentre le prime sono alterate dalla incompleta formazione dei setti e dalla incompleta separazione delle spore. Tuttavia nel secondo caso (spore libere) occorre ripetere che la loro distribuzione sul vetrino non è uniforme, per cui molte restano aderenti al vetro con la superficie più breve, per così dire " in piedi „, e apparire rotonde.

La settazione, d'accordo con Drechsler, non è sempre evidente mentre sono abbondanti le spirali, che nella nostra specie sono a passo assai stretto e destrorse (fig. 7).

Nel vecchio micelio vegetativo è osservabile il fenomeno della degenerazione delle ife, nelle quali si intervallano zone di protoplasma con spazi vuoti e simulati una produzione artrosporica (fig. 11). È l'errore nel quale sono caduti i primi ricercatori, e lo stesso Gasperini. La quistione si rilrova in Lachner-Sandoval (25) e in Vuillemin (45), che ebbe ferse presente questa falsa sporificazione quando formò la famiglia delle Microsyphoneae, ed in Grigorakis (22). Peraltro, poichè questi AA. non hanno specificato sempre la specie illustrata, ci fanno pensare che essi abbiano talora avuto a che fare con forme di *Proactinomyces*, nei quali non avviene, come è noto, una sporificazione in un micelio indifferenziato, ma il micelio vegetativo, allorchè la sua crescita si arresta, si suddivide e si fragmenta in elementi bacillari. Il processo di questa fragmentazione è stato studiato da Orskov, da Jensen e da noi e non ha a che vedere con la degenerazione di cui sopra. Le " artrospore irregolari „ di Duché e altri AA. ricordano invece molto da vicino questa degenerazione per cui noi riteniamo che questa sia stata erroneamente interpretata come una sporificazione.

Non abbiamo da rilevare differenze per quanto riguarda i singoli ceppi osservati. Anche in quelli dove l'aspetto colturale è, come vedremo, modificato (scarso micelio aereo o micelio aereo aderente, non polverulento) non ci è stato dato di osservare un differente comportamento morfologico.

Caratteri colturali

Colture in terreno Pollacci. (pH = 6,7; T. 25° C.) Vi furono coltivati tutti i ceppi. Si ha inizialmente una colonia in forme di pellicola assai aderente al sustrato, membranosa, increspata, incolora, che sviluppa in preferenza sul fondo della provetta. Il micelio aereo compare molto tardi, preferibilmente nella parte più asciutta, ed è di color bianco simile a gesso o calce spruzzatavi sopra. Invecchiando diventa bianco avorio.

Colture in agar nutritivo glicerinato (pH = 6,8; T. 25° C.) (*). Vi furono coltivati tutti i ceppi. Lo sviluppo iniziale è costituito da una colonia simile ad una pellicola umida o membranosa, plicata, aderente al sustrato e trasparente e che assume

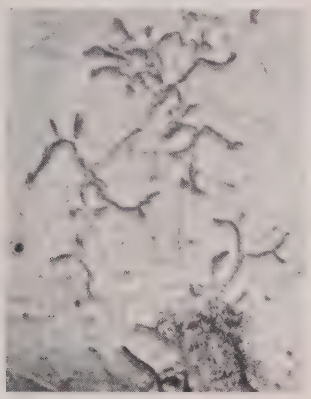


Fig. 3 — Inizio della formazione del micelio aereo in *Act. albus*.

per riflesso una tinta analoga a quella del sustrato. Solo per i ceppi FA e C 1 3 R 5 (tab. 2) si può osservare una tinta volgente al grigio. Con l'età, la pellicola si fa più opaca fino ad assumere una tinta giallognola parallelamente alla pigmentazione del sustrato, come si può osservare nelle colture dove non si è formato micelio aereo. L'apparizione di questo micelio è difatti più o meno sollecitata e si possono avere colture dello stesso ceppo sporificate oppure no anche dopo 3-4 mesi (tav. 2). La formazione del m. aereo appare in rapporto al contenuto di acqua di condensazione, all'ae-

(*) Formula: peptone gr. 10; estratto di carne gr. 5; Na Cl gr. 5; agar 20 gr.; acqua 1000 cc.; glicerina 1 %.

reggiamento delle colture e a vari fattori indipendenti dal ceppo e dalla specie. Il m. aereo è polverulento o cretaceo o gessoso, più o meno abbondante e può rivestire l'intera colonia (fig. 13). Nelle piccole coloniette isolate è facile osservare una disposizione a cerchi concentrici, come era stato descritto da Rossi-Doria. Il colore delle colonie sporificate è *costantemente bianco*, sebbene vari di tonalità secondo lo sviluppo: è difatti generalmente bianco calce all'inizio, poi bianco avorio o bianco latteo o bianco opaco e bianco-grigio nelle colture più vecchie. Particolarmente nelle colture cromogene si osserva la colorazione bianco-grigiastra del m. aereo. Il termine grigio deve intendersi limitatamente, poichè le colture anche in questo stadio sono ben distinte dalla specie *A. griseus*, dove la colorazione del m. aereo è di un grigio-plumbeo assai pronunciato. Le colture imbruniscono l'agar diffusamente con una intensità in rapporto a vari ceppi (tav. 3); tuttavia si constata una attenuazione del potere cromogeno con i ripetuti passaggi colturali [cfr. Gasperini, (20)]. Le colture tramandano il caratteristico odore di muffa o terra detto anche di attinomiceti). Le colture di un mese circa hanno il rovescio della colonia giallognolo, più o meno oscuro a secondo del potere cromogeno. La pellicola non fertile non diventa mai nera come si ha in altre specie.

Colture su terreno carota (pH = 7; T. 25° C.) Vi furono coltivati tutti i ceppi ad eccezione di R 1, R 3 C 6, IP 30, AU. Sviluppano inizialmente con colonie sparse minute, incolori, o in colonia unica rilevata. Le colonie sparse confluiscono dopo un mese di coltura circa in una patina membranosa, bianco-crema, e che si ricopre parzialmente di micelio aereo bianco, diffuso. In particolare il ceppo O 6 presenta delle variazioni di colore da bianco a bianco giallognolo, ed il ceppo AP 1 dei solchi ed anelli concentrici assai spiccati. I ceppi Mc 1, SA, C 14, Mc 2, B 1062 non presentano differenze nella struttura della colonia da quanto si è detto in agar nutritivo. Il ceppo M 1 ha delle tonalità bianco-verdi alla periferia delle colonie.

Colture in agar di Czapek, modificato (*) (pH = 7,2; T. 25° C.). Vi furono coltivati tutti i ceppi ad eccezione di Mc 1, Mc 2, O 5, IP 30, AU, FA, LB. Lo sviluppo iniziale è costituito da una vegetazione polverulenta, bianca, asciutta, con aspetti svariati, in solchi o cerchi concentrici. Il micelio vegetativo o del substrato si forma in strato molto sottile sull'agar, scarsamente visi-

(*) K_2HPO_4 gr. 1; $MgSO_4$ gr. 0,5; KCl gr. 0,5; $FeSO_4$ gr. 0,01; $NaNO_3$ gr. 0,2; saccarosio gr. 30; agar gr. 15; acqua 1000 cc.

bile e solo eccezionalmente spesso come nei precedenti terreni. La colonia non assume mai un aspetto rigoglioso, e dopo 40 giorni di coltura le caratteristiche sono le stesse. Il micelio aereo bianco appare in ritardo oltre che nei ceppi Ba 1 e AU, anche in R 1 e R 3 C 6, B 1062. Non si osserva per nessun ceppo pigmentazione dell'agar ad eccezione del ceppo C 14, che mostra un debole potere cromogeno su questo mezzo.

Colture su patata in pezzi (T. 24° C.). Non coltivati i ceppi AU e LB. Lo sviluppo è assai rapido con coloniette parzialmente confluenti o in forma di micelio esteso, membranoso, che si ricopre assai presto di micelio aereo bianco. Il colore del micelio aereo presenta le già riferite variazioni con l'età.

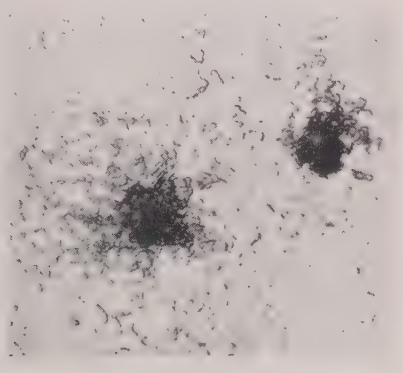


Fig. 4 — Colonie sporificate di *Act. albus*.

Colture su carota in pezzi (T. 25° C.). I ceppi Ba 1, R 1, Mc 1, B 1062, non svilupparono in questo terreno. Per i rimanenti si osserva la formazione di una colonia continua, membranosa, sottile, con una più o meno ricca sporificazione, di color bianco, che diventa avorio con l'età.

Colture in acqua peptoglucosata (pH = 7,5; T. 25° C.) Vi furono coltivati tutti i ceppi. Si forma una pellicola sul velo dell'acqua, ed un anello attorno alle pareti del vetro. La colorazione è bianca nelle porzioni ricoperte di micelio aereo, che sono le più emerse, mentre è giallognola o giallo verde, dove non si è formato il micelio aereo. In C 14 non si è formato anello; in Ba 1 l'anello non è completo; ed in IP 30 l'anello è apparso molto in ritardo. Al fondo della provetta si forma ma non costantemente per tutti i ceppi, un deposito nuvoloso, incoloro di micelio immerso (cfr. Tav. 3 per pigmentazione e pH).

Colture su mezzi diversi. Ad integrare le osservazioni colturali già dette, sono state eseguite, analogamente a quanto è stato fatto per le specie precedentemente studiate, [Baldacci (3)] delle colture sui seguenti mezzi:

Soluzione di Czapek. Ceppi C 14, Mc 1. Si osserva la formazione di coloniette galleggianti di 1 cm. di diametro riunite parzialmente in veli bianchi. Il ceppo C 14 forma un anello attorno al vetro.

Brodo di carne agarizzato: Ceppo Ba 1, colonia membranosa, in strato sottile, con micelio aereo bianchissimo, disposto in cerchi concentrici. Con l'età il colore diventa bianco avorio.

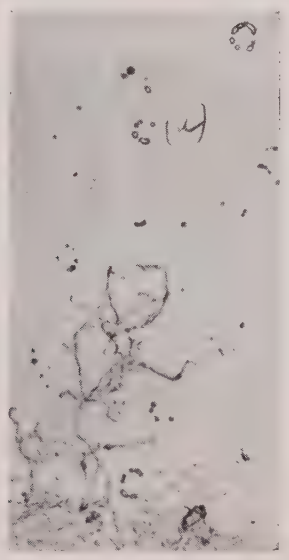


Fig. 5 — Particolare della fig. 4. Si osservino le impronte dei filamenti a spirale (*a*).

Terreno Pollacci, aggiunto di 1,5 cc. di Hemosblastina per provetta. (L'He. è in fiale dell'Ist. Sier. nazionale) (pH = 7; T. 37° C). Ceppo Ba 1. Colonie puntiformi su tutta la superficie, incolori, e parzialmente confluenti, membranose, senza micelio aereo. Lo stesso ceppo non sviluppa su solo agar più Hemoblastina nella stessa quantità.

Agar al cervello di vitello: Ceppo Ba 1. Forma colonie rase, liscie o rugose, polverulente, bianche. Su cervello non agarizzato il micelio aereo tende ad un color bianco-sporco.

Brodo glucosato: Ceppo Ba 1, come in acqua peptoglucosata.

Per le colture su gelatina ed amido rimandiamo alla tabella 3.

Caratteri biochimici

Temperatura: Uno sviluppo costante si ottiene a 24°-25° C. mentre a 18° C. l'accrescimento delle colonie è oltremodo lento. A 37° C. lo sviluppo è rapido per taluni ceppi mentre altri non sembrano favoriti dall'aumento di temperatura. Taluni ceppi sono capaci di un rapido e abbondante sviluppo fino a 47°-50° C. Tale caratteristica non è però esclusiva di una sola specie, poichè oltre l'*Actinomyces albus*, hanno mostrato di sviluppare ad alte temperature anche ceppi di *Act. griseus* e *Act. violaceus*. Tali ricerche saranno riferite a parte in altro lavoro.

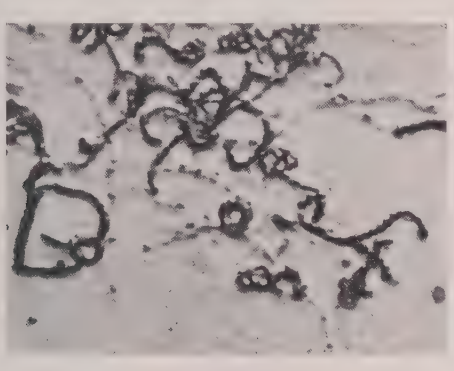


Fig. 6 — Ife fertili del micelio aereo in *Act. albus*.

Azione proteolitica (vedi tab. 3). Tutti i ceppi fluidificano la gelatina ad eccezione dei ceppi IP 30 e C 13 R 5 nei primi 30 giorni di coltura. Anche l'intensità delle reazioni appare assai costante, misurata in altezza in mm. della zona fluidificata in provette dello stesso diametro (0,8-2). Tutti i ceppi alcalinizzano.

Cambio delle reazioni. Tutti i ceppi alcalinizzano sia in gelatina (vedi sopra) sia in acqua peptoglucosata (Tab. 3).

Azione diastasica sull'amido. La reazione si presenta meno costante (Tab. 3).

Invertasi. La reazione è positiva, nelle condizioni di esperimento, per i soli ceppi: O 1, C 13 R 5.

Riduzione dei nitrati. Nelle colture di liquido di Czapek, è negativa per tutti i ceppi dopo un mese di coltura a 25° C.

Anaerobiosi. I ceppi sottoposti all'esperimento dimostrano scarse attitudini alla vita in queste condizioni (Tab. 3).

Discussione, sinonimia e diagnosi

Se dall'insieme delle osservazioni e prove colturali precedentemente esposte, è relativamente facile stabilire quali siano i caratteri che contraddistinguono l'attinomicete in studio, molto meno facile è lo stabilire se e fino a che punto le descrizioni degli AA. che ci hanno preceduto concordano con tali caratteri. Ma nell'esame dei dati storici di questi microrganismi è necessario tener presente che quasi mai l'accettazione del nome di etichetta o di battesimo è stata accompagnata da una discussione sulla legittimità del nome stesso. Il Rossi-Doria (38), come si è visto, ha rifiutato la desi-

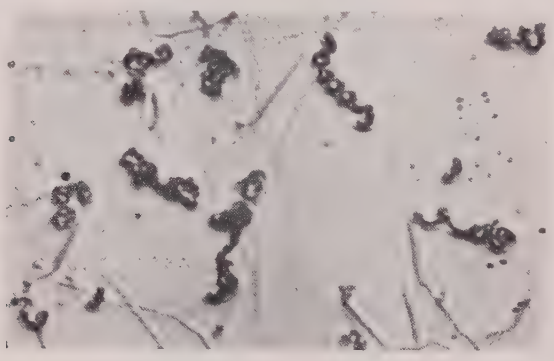


Fig. 7 — Ife a spirale, fertili, nel micelio aereo di *Act. albus*.

gnazione usata impropriamente dal Gasperini (20) per questa specie, ma ha trascurato di darne precise caratteristiche. Gli scrittori posteriori si sono così trovati in difficoltà tanto più che il numero delle terminologie specifiche aumentava rapidamente. D'altro lato sulle ricerche sistematiche prevalevano gli studi sulla biologia di questi microrganismi, che venivano ritrovati in mezzi svariati e in casi patologici, ponendo di volta in volta interessanti problemi sulla loro diffusione, sulle loro possibilità di vita e sulle attitudini parassitarie. Anche coloro che tentavano un primo ordinamento sistematico delle specie, finivano col trascurare i riferimenti storici e specificare i ceppi isolati secondo criteri loro. Così se la descrizione che il Krainsky fa della specie *Act. albus* concorda abbastanza con quella di Gasperini, è certo che, come scrive lo stesso A. la descrizione di Waksman si allontana da quella di Krainsky. Per suo conto il Drechsler (14) identifica con la specie *albus*, il ceppo che

Waksman aveva descritto come *Act. griseus*, mentre questo ultimo aveva riferito ad *Act. griseus* un'altro ceppo, a condizione di emendare tuttavia la diagnosi di Krainsky.

La quistione non può essere risolta solamente con l'esame dei ceppi originali, perchè questi, specialmente i più antichi, sono oggi irreperibili. È necessario a nostro avviso integrare le ricerche condotte con scopi sistematici con un attento esame delle descrizioni.

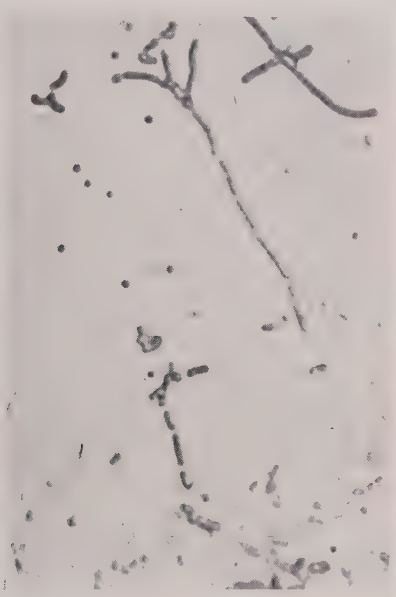


Fig. 8 — Sporulazione in *Act. albus*.

Nel caso dell'*Act. albus*, la descrizione di Gasperini (20) che è la prima effettuata, non lascia dubbi di sorta e si sovrappone molto bene alle osservazioni morfologiche e colturali dei nostri ceppi. Noi riteniamo di non dover prendere in considerazione per la diagnosi dell'*Act. albus* le descrizioni fatte da Waksman e Curtiss, le quali presentano caratteri aberranti, o diversi. La descrizione di Krainsky s'accorda maggiormente con quella del Gasperini, nè noi riteniamo di entrare in merito circa la designazione del color grigio (grau) del micelio aereo, che apparirebbe influenzata dalla natura e dalla quantità di sostanza azotata, come asparagina e peptone. Abbiamo detto come il micelio aereo tenda con l'età a farsi di un bianco grigio che può in certo qual modo giustificare l'espressione usata

da Krainsky. Rimandiamo per quanto riguarda forma e misura delle spore alle considerazioni già fatte. Parimente con la descrizione di Gasperini s' accorda quella fatta dal Duché.

Oltre queste descrizioni, riteniamo che si debbano riferire ad *Act. albus*, le seguenti specie:

Cladothryx dichotoma Macè (29) (1888) nec Cohn, di cui il Gasperini (1892) aveva già osservato che la designazione del Macè era stata fatta impropriamente, senza " discutere se fosse o meno identica all'actinomyces „. La descrizione del Macé risulta essere la prima dell'attinomicete in studio, ma non si può prendere in considerazione la terminologia usata dall' A. ai fini della priorità a causa dell'errato riferimento sistematico, con una entità specifica già descritta e diversa.

Oospora Doriae Sauvageu et Radais (43) (1892). Per espressa dichiarazione dei due AA., non si tratta di un nuovo isolamento ma solo una nuova combinazione fatta da due AA. che non accettando il g. *Actinomyces* e il g. *Streptothrix*, si trovano a dovere escludere la combinazione di *Oospora alba* perchè preesistente.

Actinomyces saprophyticus Gasperini (20) (1892, p. 226), terminologia creata in modo fuggevole dallo stesso Gasperini per l'*A. albus.*

Cladothryx invulnerabilis descritta da Acosta e Rossi (1) ed isolata da contaminazione di laboratorio e da acqua, non patogena con colonie bianche e rovescio delle colture giallognolo, e resistente ad alte temperature.

Streptothrix Gedanensis (I) Scheele e Petruscky.

Streptothrix candida (*Gedanensis* II) Petruscky.

Streptothrix Lathridii Petruscky specie tutte e tre già da noi discusse in altro lavoro (Baldacci, 1938) e riconosciute come *A. albus.*

A queste sono da aggiungere altre specie già riferite all'*Act. albus* e cioè:

Streptothrix leucea Foulerton, *S. alpha* Price-Jones, *S. pyogenes* Caminiti secondo Chalmers e Christopherson (9).

Cladothryx liquefaciens Heesse, *Oospora* Bodin, *Streptothrix Dassonvillei* Brocq-Rousseau D. secondo l'indagine critico-bibliografica effettuata da Duché (17).

Dallo studio effettuato da noi risulta pure che l'*Act. Sanninii* (Cif.) Westerd. è identico alla nostra specie. L'*A. Sanninii* fu descritto ed isolato da Ciferri (10), (1922). L' identità con *A. albus* era già stata sospettata dall' A. il quale scrive " non è improbabile che la specie sia ancor più simile che alle due precedenti, alla *Str. alba* Rossi-

Doria (pag. 2, nota 2). Sulla necessità di revisione l'A. torna nel lavoro del 1927 (10).

Lo studio del ceppo FA, etichettato *A. farcinicus* non ci autorizza invece a concludere sull'identità di questa specie con la nostra. Confermiamo invece l'opinione del Puntoni (37) espressa nella relazione al VI Congr. Naz. Microb. 1937, e cioè che alcuni ceppi etichettati come " *farcinicus* " siano simili all'*albus* ed altri, secondo Puntoni, al *Proactinomyces asteroides* (3) (1937). Ma è neces-

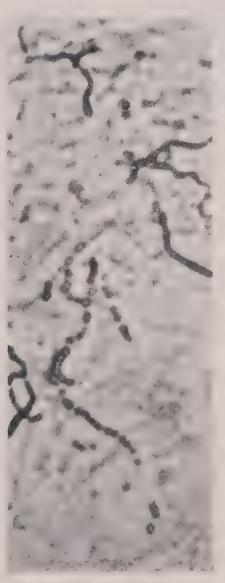


Fig. 9 — Ife sporulanti in *Act. albus*.

sario per pronunciarsi definitivamente comparare la descrizione originaria di Nocard e preferibilmente se possibile il ceppo con le specie note. Così non condividiamo l'opinione di Chalmers et Christopherson (9) sull'identità fra *A. farcinicus* con la *Str. albido-flava* Rossi-Doria, oltre che per le ragioni dette, per quanto si dirà a seguito su quest'ultima.

Il nostro ceppo R 3 C 6 etichettato *S. alboflava* proviene dalla raccolta dal Sanfelice. Ignoriamo se si tratta di una nuova denominazione o se di un errore di trascrizione del *Str. albidoflava* di Rossi-Doria. Waksman descrive un attinomicete con il nome *Act. alboflavus* come nuova specie. Le caratteristiche del nostro ceppo, come quelle ricavate dalla descrizione del Rossi-Doria, coincidono con l'*Act.*

albus; ma quelle date dal ricordato A. americano sono diverse e si avvicinano all'*Act. flavus*. Recentemente Duché ha emendato la diagnosi di Rossi-Doria per uno stipite di attinomicete che egli ritiene identico all'originario di Rossi-Doria. Noi riteniamo che non sia possibile pronunciarsi senza uno studio comparato di ceppi del tipo o comunque simili all'*A. flavus*, oltrechè dei ceppi ricordati sopra. Per questa ragione non consideriamo nella sinonimia di *A. albus* i nomi sopradetti.

Per quanto riguarda il ceppo AU, etichettato *A. aureus* la confusione non è minore. I caratteri del nostro ceppo non corrispondono nè alla descrizione originaria della specie fatta da Du Bois Saint Sevrin e Mercier (16) nè a quella che con la stessa terminologia è fatta da Waksman (46). A proposito di quest'ultima si deve rilevare che l'A. americano ha usato tale nome senza tenere affatto in considerazione la precedente descrizione dei due autori francesi, non solo ma l'attinomicete di Waksman non corrisponde nei caratteri a quello descritto da Saint-Sevrin e Mercier. Come abbiamo avuto occasione di rilevare per la terminologia " *bovis* „, e come faremo osservare per la terminologia " *hominis* „ (Cap. VIII), il difetto del lavoro di Waksman sta in questo mancato riferimento bibliografico e critico: chè se l'A. non avesse voluto entrare in quistioni tassonomiche avrebbe per lo meno dovuto evitare il battesimo di nomi che erano già stati usati da precedenti AA., e con i quali creava dei doppioni causa di confusione nella già intricata sistematica degli attinomiceti.

I caratteri dell'*aureus* secondo Du Bois Saint Sevrin ricordano alcune specie del tipo o gruppo del " *flavus* „, per il quale rimandiamo a quanto detto sopra. Perciò mentre identifichiamo il nostro ceppo come un *A. albus*, facciamo riserve sulla reale entità della specie *A. aureus*.

Restano ancora da considerare alcune specie di Duché, l'*Act. Almquisti* e l'*Act. Gougeroti*. La prima è fatta dall'A. su di un ceppo proveniente dalla micoteca di Baar, con l'indicazione *A. albus* Krainsky (Waksman e Curtiss) (*), e il Duché la eleva a nuova specie per la " efflorescence pauvre se produisant sur les cultures pauvres „; e " la rapproche des especes pathogenes, en particulier du groupe *bovis* „. La seconda proviene da una coltura della collezione del Prof. Gougerot, e è a detta dell'A., " intermédiaire entre l'*A. albus* à efflorescence abondante et l'*A. Almquisti* à efflorescence

(*) Si tratta forse di un ceppo studiato da W. e C. ma non è detto.

très rare „. A nostro avviso i caratteri differenziali esposti dal Duché non sono sufficenti per la creazione di queste nuove specie. Abbiamo già osservato come il nostro ceppo Ba 1 presenti particolarmente le stesse caratteristiche di " efflorescenza ridotta „. Ma poichè tale espressione non significa altro, dopo il nostro studio morfologico, che una ridotta sporificazione, mentre le forme, misure e delle spore e le spirali sono eguali agli altri ceppi a sporificazione abbondante se ne deduce che l'introduzione di caratteristiche simili

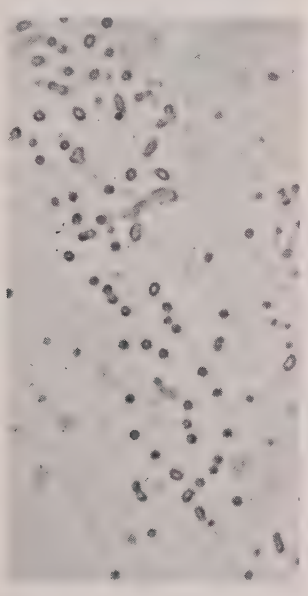


Fig. 10 — Spore libere di *Act. albus.*

a questa, è contraria ad ogni criterio sistematico. Noi pensiamo che con un tale criterio il numero delle specie potrebbe salire facilmente a cifre inverosimili! D'altro lato l'espressione usata dal Duché che " avec l'*A. Gougeroti* nous allons vers les espéces pathogènes, vers le group *bovis* „, analoga a quella precedentemente citata, non ha un chiaro significato. Difatti la specie " *bovis* „ è risultata dagli studi di Puntoni e nostri inesistente, e il gruppo " *bovis* „ come è indicato dall'A., sembra farci intendere le specie che noi abbiamo compreso nel g. *Proactinomyces* (= *Asteroides* Puntoni) e che costituisce un genere nettamente distinto, riferito ad una famiglia diversa. In conclusione noi riteniamo di non poter

diversificare le due specie del Duché per i caratteri indicati dall'A., almeno che non ve ne siano di più notevoli e importanti. Piuttosto noi crediamo che si possano istituire utilmente delle varietà, se si tiene a differenziare tali ceppi. Tutta la sistematica del Duché sembra invece basata sopra differenziazioni quantitative (maggiore o minore efflorescenza, talli più o meno rilevati ecc.) per cui una specie fa da anello all'altra. Ora noi crediamo che nella sistematica e particolarmente nella sistematica di questi microrganismi sia necessario poter precisare bene, con una certa ampiezza, le caratteristiche della specie, che è poi l'entità su cui si basa la classificazione, lasciando un margine alla creazione di varietà, sottospecie o come altro si vogliano significare, data la facilità di variazioni che i microrganismi stessi presentano, in rapporto alla

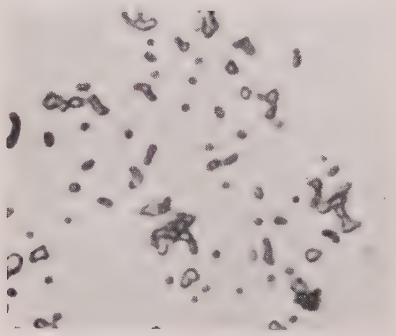


Fig. 11 — Come fig. 10. Si osservi l'evidente polimorfismo.

provenienza, coltura, isolamento, età ecc. Pochissime sono invece le varietà create in seno alle specie di attinomiceti. Il resultato di queste tendenze è stato di fare ammassare nel genere *Actinomyces* o *Nocardia*, come altri vuol chiamarlo, una congerie piuttosto eccessiva di specie difficilmente identificabili l'una dall'altra e delle quali si impone una revisione.

Fra le varietà di *A. albus* precedentemente descritte sono da ricordare: l'*Act. albus* v. *ochroleucus* Neuk. (32) e l'*Act albus* v. *cretaceus* (Krüg.) Wolleweber (47), che si differenziano dal tipo per una più intensa colorazione del micelio del sustrato, che è olivastra per il secondo e ocracea per il primo, mentre il micelio aereo è di color cremeo. Le misure delle spore non sono sensibilmente diverse. L'*Act. albus* v. *acidus* del Neukirch (32) e la varietà di Ciferri, che l'A. trovò presente sui semi e frutti di cacao. Quest'ultima differisce solo lievemente dal tipo ma questo è studiato nell'emendamento di Waksman e Curtiss. Infine la v. *tossica* di C. Rossi (39).

Come si è detto la formazione di varietà può essere incoraggiata; tuttavia per il momento noi reputiamo inutile al nostro compito una differenziazione dei ceppi studiati. Al capitolo seguente faremo alcune considerazioni sopra le specie: *A. chromogenus*, *A. odorifer* e *A. thermophylus*, che includiamo fin d'ora nei sinonimi di *A. albus*, e di cui diamo a seguito l'elenco. Questo deve probabilmente ritenersi ancora incompleto, poichè altre specie descritte nei primi reperti colturali sono sparse e difficilmente rintracciabili.

Actinomyces albus (Rossi-Doria) Gasperini
= *Cladothryx dichotoma* Macé nec Cohn, 1888
= *Streptothrix Foersteri* Gasp. nec Cohn, 1890
= *Streptothrix* n. 2 e n. 3, Almquist, 1890
= *Streptothrix alba* Rossi-Doria, 1891
= *Actinomyces saprophyticus* Gasperini, 1892
= *Oospora Doriae* Sauvageau et Radais, 1892
= *Cladothryx liquefaciens* Hesse, 1892 (fide Duché)
= *Cladothryx invulnerabilis* Acosta e Grande Rossi, 1893
= *Actinomyces chromogenus* Gasperini, 1894 (cap. VI)
(= *Streptothrix nigra* Rossi-Doria, 1891)
= *Streptothrix gedanensis* I Scheele et Petruscky, 1897
= *Streptothrix graminearum* Berestneff, 1898 (cap. VIII)
= *Actinomyces thermophylus* (Berestneff) Miehe, nec Gilbert, 1898 (cap. VI)
= *Cladothryx odorifera* Rullmann, 1898 (cap. VI)
= *Actinomyces chromogenes* Gasp. *β alba* Lehemann et N., 1899
= *Oospora sp.* Bodin, 1899 (fide Duché)
= *Oospora alpha* Price-Jones, 1900 (fide Chalmers et Ch.)
= *Streptothrix leucea* Foulerton, 1902 (fide Chalmers et Ch.)
= *Streptothrix candida* Petruscky, 1903
= *Streptothrix Lathridii* Petruscky, 1903
= *Streptothrix Dassonvillei*, Brocq-Rousseau, 1907 (fide Duché)
= *Streptothrix pyogenes* Caminiti, 1907 (fide Chalmers et Ch.)
= *Actinomyces albus* Krainsky, 1914
= *Actinomyces Sanninii* Ciferri, 1922
= *Actinomyces Almquisti* Duché, 1934
= *Actinomyces Gougeroti* Duché, 1934

Sinonimia dubia:

= *Actinomyces albus* (Krainsky) Waksmann et Curtiss, 1919
= *Oospora Metchnikowi* Sauvageau et Radais, 1892 (Cap. VI)
= *Oospora Guignardi* Sauvageau et Radais, 1892 (Cap. VI)
= *Actinomyces thermodiastaticus* Bergey (1919) 1925 (Cap. VI)

Varietas:

= *Actinomyces albus* v. *acidus*, Neukirch, 1902 (fide Nannizzi)
= *Actinomyces albus* v. *ochroleucus*, Neukirch, 1902 (fide Wollen.)
= *Actinomyces albus* v. *tossica* Rossi C., 1905
= *Actinomyces albus* v. *cretaceus* (Krüg.) Wollenweber, 1920
= *Actinomyces albus* v. α Ciferri, 1927.

Diagnosi (*): Micelio del sustrato ialino, intero, di meno di 1 μ di diametro, ramificato, talora con filamenti ad andamento sinuoso con ramificazioni ad angolo retto; micelio aereo ialino o subialino, settato, fertile, di 1-1,4 μ di diametro, con filamenti che terminano

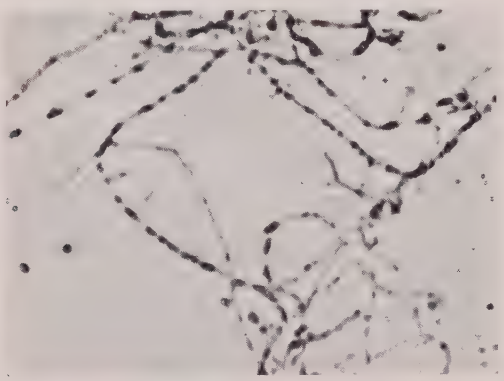


Fig. 12 — Falsa sporulazione. Ife del micelio vegetativo in fase di degenerazione (preparato non colorato).

ad uncino od a spirali. Spore ovoidali, e meno spesso ovali, 0,6 0,7 × 1-2 μ di diam.

In coltura il micelio vegetativo si presenta incoloro e nel rovescio della coltura più o meno giallognolo, in rapporto all'età e al potere cromogeno. Il micelio aereo è bianco, e conserva tale colore costantemente; con l'invecchiamento il colore varia tonalità in rapporto anche ai sustrati ed al loro contenuto in sostanze azotate e carbonate; le tinte che più spesso assume sono da bianco

(*) Hyphis micelii vegetativi integris, hyalinis, minus 1 μ cr., ramosis; hyphis micelii aërii hyalinis vel subhyalinis septatis, 1-1,4 μ cr.; sporis in hyphis spiralatis, ellicticis, 0,6-0,7 × 1-2 μ cr.; in culturis coloniis primum incoloribus deinde albis propter vegetationem aëream; vi biochaemica positiva ac chromogenesi incostanti.

Habitat: in aëre, in aqua et ubique; in morbo actinomicotico.

avorio a bianco crema, a bianco latteo o bianco grigiastro. La vegetazione aerea dà alla coltura un tipico aspetto polverulento, o cretoso, a secondo della maggiore o minore attitudine dei ceppi a sporificare più o meno abbondantemente. Altra caratteristica che varia con i ceppi e la loro provenienza od isolamento è l'attitudine a pigmentare il sustrato, che può farsi fin nero. Costante è l'odore di muffa che tramandano le colture.

Habitat: diffuso in tutti i mezzi, dall'acqua all'aria, al terreno; isolato da casi patologici; è specie oltremodo diffusa ed ubiquitaria; è causa del muffito nei vini e capace di altre alterazioni in rapporto all'ambiente in cui sviluppa. È stato isolato altresì dall'intestino di Termiti.

VI.

Actinomyces crhomogenus, Actinomyces odorifer e *Actinomyces thermophylus.*

Il Gasperini (20) descrive nel 1891, una nuova specie di *Streptothrix*, che egli differenzia dalla precedente descrizione della *Str. Foersteri*, di cui si è detto nel capitolo V, indicandola come cromogena, per il potere spiccato di pigmentare l'agar e i sustrati di coltura. In questo lavoro l'A. non dà per altro la grafia latina della terminologia usata. Il Rossi-Doria (38) propose nello stesso anno la designazione di *Streptothrix nigra*, terminologia che il Gasperini (1891) non accettava così commentando: " l'appellativo di *chromogenus* è poco adatto perchè si è visto che non è essa la sola a produrre colori su vasta scala, nè la sola a giungere fino al nero. Per la stessa ragione non si addice l'appellativo di niger „. Fin dal primo lavoro il Gasperini, appare incerto se distinguere questa *Streptothrix* dall'*A. albus*. Scrive difatti che " le colture in gelatina assomigliano molto al tipo di quelle della *S. Foersteri* „, eccettuato s'intende la pigmentazione della gelatina, che si colora " simile ad iodio sciolto in acqua „. E più avanti: " il fatto che questa (*S. chromogena*) può nel brodo non spiegare tutto il suo potere colorante e che la *Foersteri* può in certo grado acquistarlo, non nascondo mi abbia fatto rimanere perplesso circa la giustezza o meno della differenziazione specifica „. Dopo aver descritto i caratteri morfologici scrive ancora: " non è qui fuor di luogo la domanda se la distinzione specifica fra le due *Streptothrix* possa farsi senza valido appoggio dal lato morfologico o se in altri termini sia l'una

da considerarsi rispetto all'altra come una varietà. Quantunque in base a tutto ciò che ho esposto sembri facile rispondere in favore della distinzione specifica, pure tenendo conto delle variazioni durevoli delle forme e delle funzioni nei microrganismi, specialmente della funzione cromogena, si rendono necessarie ulteriori indagini per meglio apprezzare il valore dei caratteri, e quindi per risolvere la quistione con sicurezza maggiore „. Nel lavoro del 1892, scrive: " solo per intenderci chiamerei *actinomyces saprophyticus* la specie più comune descritta da me come *Foersteri*, della quale poi consi-

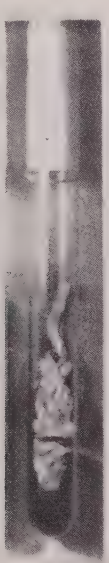


Fig. 13 — Coltura sporificata di *A. albus*.

dererei come varietà l'*actinomyces chromogenus*, ecc. „. Ma nel lavoro del 1894 i termini sono invertiti: " Le colture bianche di questa specie (la cromogena) fanno pensare che l'*albus* anzichè un *Actinomyces* a sè non stia altro a rappresentare che l'avvenuta perdita del potere cromogeno di specie o varietà distinte „.

È in questo ultimo lavoro che egli tiene distinte le due specie. I caratteri differenziali dell'*Act. chromogenus* sono costituiti dal forte potere di pigmentare la gelatina, la patata, l'amido, il siero di sangue coagulato o liquido, e dalla colorazione della colonia (micelio vegetativo) in ocra (cfr. la varietà *ochroleucus* e la descrizione del Jensen), mentre il micelio aereo è bianco nelle due specie. Il

colore delle colonie è detto nel lavoro del 1894, " avana o cioccolata cupo nelle colture su patata, colore che si diffonde al sustrato con la massima intensità e a distanza. Le pellicole non rivestite di filamenti aerei possono presentarsi di color nero „ (*). Tuttavia questa proprietà può essere perduta facendo trapianti ripetuti in brodo e in gelatina.

Il Gasperini (1892) considera sinonimi della specie la *Cladothryx dichotoma* Macé, basandosi sopra l'accenno fatto da Macé di una aureola bruna, che si diffonde nel sustrato attorno alla colonia; e nel lavoro del 1894 vi considera sinonimi le due *Oospora Metchnihowi* e *O. Guignardi* di Sauvageu e Radais (43), ma non ne indica le ragioni. Non risulta facile ammettere tale identità dalla comparazione delle descrizioni, per cui noi abbiamo annoverato queste specie fra i sinonimi dubbi.

Fra le specie cromogene descritte successivamente si avvicina alla descrizione del Gasperini, quella fatta da Cohn per un *Actinomyces pheochromogenus*, ridescritto da Waksman (46). Concorda con la descrizione del Gasperini la colorazione bruna fino al nero delle colonie, la vegetazione aerea bianca e il potere pigmentante. Tuttavia analogie simili date la sommarietà della descrizione del Gasperini, si possono ritrovare anche con l'*Act. purpeochromogenus* Waks. et Curtiss, i quali AA. (46) pongono invece l'*Act. chromogenus*, come sinonimo di *Act. scabies*, ma Millard e Burr (31) osservano che varie specie si potrebbero identificare nell'*Act. chromogenus*, mentre emendano la diagnosi dell'*Act. scabies* perchè insufficentemente descritta.

Puntoni (37) riprende recentemente l'idea del Gasperini affermando di poter considerare le due entità (*A. albus* e *A. chromogenus*) " come varietà di una stessa specie anzichè specie diverse „.

Lo studio dei ceppi di cui al capitolo precedente mostra chiaramente che il potere pigmentante può mancare irregolarmente in alcuni ceppi a secondo del sustrato di coltura (vedi Tav. 3), ma che non esistono altre differenze oltre questa. Ci sembra quindi opportuno concludere per la sinonimia di questo termine con l'*A. albus*, alla quale specie si deve riconoscere l'attitudine di pigmentare il sustrato, attitudine che può subire variazioni a secondo della coltura e dell'origine (v. diagnosi).

Con il termine di *Cladothryx odorifera*, Rullmann (40) descriveva nel 1896 un microrganismo dall'odore di terra, che egli stesso

---

(*) Deve intendersi con tutta probabilità il rovescio delle colture; nel nostro studio non si sono mai osservate pellicole nere, come invece accade per l'*Act. sulphureus*.

riconosceva successivamente identico alla *Cladothryx dichotoma* (Macé), Günther nec Cohn. Le differenze consistevano nella diversa intensità di pigmento diffusibile nel sustrato. Lehmann e Neumann (26) nel loro trattato di batteriologia riportano la specie di Rullmann, e la *Cladothryx dichotoma* Macé in sinonimia con *Act. chromogenes* (di cui essi danno la diversa grafia da quella originaria di Gasperini). Tale sinonimia veniva accettata dai vari trattatisti posteriori. Alla specie di Rullmann (*) veniva attribuito altresì la caratteristica alterazione del " sapore di muffa „ nei vini, in prove sperimentali compiute da Peglion (34). Nella letteratura successiva la specie è pochissimo ricordata; non vi sono ricerche sistematiche condotte su di esse. Il Lieske (27) studia un ceppo proveniente dalla collezione di Kral, forse identico a quello studiato da Peglion, a spore cilindriche. Altri AA., che qui si tralascia di citare fanno riferimento a ceppi di *A. odorifer*, in ricerche sulla biologia degli attinomiceti. L'esame dei due ceppi in nostro possesso ha potuto confermarci che si tratta di ceppi di *A. albus*, al quale dopo quanto è detto e dal confronto dei caratteri colturali (Tav. 1) passiamo in sinonimia la specie.

Con *Actinomyces thermophylus* è stato specificato, secondo molti AA., un attinomicete caratterizzato dalla resistenza alle alte temperature (60° C.) Il Berestneff (6) descrive un attinomicete con questo nome fin dal 1891. Anche il Miehe (30) nel 1907 torna a isolare un ceppo termofilo che identifica con la specie di Berestneff. Mentre pochi anni prima (1904) il Gilbert (21) aveva compiuto un studio su questa specie. L'A. che non ricorda il Berestneff, mentre dà un ampio ragguaglio sugli isolamenti dei ceppi termofili, isola a sua volta un ceppo da terra le cui caratteristiche non sembrano corrispondere alla precedente descrizione del Berestneff, poichè ha micelio aereo grigio. Secondo l'A., il suo ceppo è identico a quelli di Kedzior, Sames, Tsiklinsky (n. 1). Date le differenze con il ceppo di Berestneff l'uso della stessa terminologia *A. thermophylus* da parte del Gilbert è contrario alle norme di nomenclatura.

Schütze (48) tornò a studiare nel 1908, due ceppi di attinomiceti termofili, il primo dei quali presenta delle caratteristiche assai analoghe all'*Act. chromogenus* ed il secondo: *Act. monosporus* è da considerare una specie di *Micromonospora*, come aveva osservato l'Orskov (33) e probabilmente identica a *Micromonospora coerulea*

(*) Di un successivo isolamento di questo A. (1898) da caso umano sarà detto al Cap. VIII.

Jensen. Lo Schütze osserva che è possibile coltivare gli attinomiceti termofili a temperature più basse in mezzo acido (*).

Lehmann e Neumann (26) e De Rossi (15) (pag. 1040), ritengono che le caratteristiche dei ceppi termofili siano simili a quelli dell'*A. chromogenus*, e l'unica differenza consisterebbe nello sviluppo a temperature fra 35° e 60° C.

Le ricerche di Lieske (27) provano per altro che lo sviluppo di attinomiceti a temperature di 60° C. è facilmente ottenibile da isolamenti di terreno su piastre di carne lattosata, e l'A. ne deduce che gli stipiti termofili sono forme di adattamento o mutazione di attinomiceti non termofili.

Pertanto in base alle ricerche di Lieske e dall'indagine bibliografica risulta che l'attitudine a resistere alle alte temperature è comune a più specie e che il nome di *A. thermophylus* è stato usato da vari AA. per indicare specie fra loro diverse per caratteri colturali e morfologici. Riteniamo pertanto di considerare sinonimo di *A. albus*, l'*Act. thermophylus* sensu Berestneff e Miehe, mentre di considerare nulla la designazione fatta da Gilbert. Il ceppo di questo A. si deve probabilmente identificare con l'*A. griseus* o specie analoga.

Il Bergey (1) molto più tardi illustra due nuove specie termofile di cui uno l'*A. thermodiastaticus* ha caratteri che ricordano molto da vicino quelli dell'*Act. albus* (cfr. Tab. 1). Noi riteniamo che anche questa specie debba considerarsi un ceppo di *A. albus*, ma naturalmente solo un diretto confronto colturale potrà dare una risposta definitiva.

Volendo riassumere quanto è stato precedentemente illustrato e discusso a proposito delle specie suddette, noi riteniamo, sulla scorta di indagine sperimentali altrui e nostre, che le attività cromogene, l'emissione del caratteristico odore, e la facoltà di resistere alle alte temperature siano comuni a varie specie e che esse non possano essere prese in considerazione per la diagnostica delle specie stesse. A queste facoltà si possono aggiungere altre come ad esempio la resistenza al disseccamento. Esse comunque rientrano nei caratteri biologici degli attinomiceti sui quali esiste una abbondantissima ricerca; l'essenziale al nostro scopo era solo di stabilire se tali caratteri costituissero elementi differenziali specifici.

Si potranno invece considerare utilmente a nostro avviso, tali

(*) In Lehemann e Neumann è indicato (pag. 686) un *Act. glaucus*, termofilo, a spore verdi, isolate su ife brevi del micelio. Di questa specie non vi è indicazione in Schütze, mentre è riportata in Lieske. Noi riteniamo trattarsi di un sinonimo dell'*A. monosporus*.

caratteri comuni a molte specie per costituire delle affinità e riunire in sottogeneri molte specie aventi in comune le proprietà cromogene, termofile e l'emissione d'odore.

VII.

Actinomyces viridis.

Quanto si verrà esponendo sulla specie in titolo è una volta di più la riprova della confusione e della mancanza di criteri tassonomici uniformi e della necessità di una revisione delle specie degli attinomiceti. Questa specie è stata difatti descritta ben tre volte come specie nuova e — ciò che è ben più curioso — con lo stesso nome; una quarta volta è ridescritta con nome affine.

Nel 1903 Lombardo Pellegrino (28) descriveva con il nome di *Streptothrix viridis* un microrganismo caratterizzato dalla pigmentazione in verde, da verde pistacchio a verde cupo fino a nero dei sustrati di coltura. L'A. rilevava alcuni caratteri morfologici asserendo che il microrganismo era formato da filamenti sottili, intrecciati, leggermente ondulati, ramificati ad angolo retto se corti e ad angolo acuto se più lunghi; uniformemente colorabili. Con l'invecchiamento il protoplasma si spezzettava in " cubetti „, mentre più avanti non vi si distinguevano che forme bacillari, streptobacillari, spirilli e cocci. Si deve qui probabilmente intendere la comparsa della vegetazione aerea. In coltura difatti si ha la formazione di una polvere bianca, leggera, costituita di ife aeree sporigene. Le colonie appaiono in agar di due tipi o strutture. Una è convessa, aderente al sustrato, con margini bianchi, di color bianco sporco quasi rossiccio da prima, in seguito verde chiaro e poi verde scuro. Quando la colonia è adulta acquista un aspetto vellutato per la presenza di filamenti aerei e la forma di un grosso cercine verde sovrapposto ad una base bianco sporca. L'altro tipo della colonia è meno frequente e appare costituita da prominenze e creste verdastre intrecciate e contorte, finemente vellutate. L'attinomicete ha sviluppo anaerobio oltre che aerobio, ma perde in questo caso il potere pigmentante. In patata si colora in viola cupo ricoprendosi di filamenti bianchi. In brodo forma in superficie dei glomeruli natanti bianco sporchi minutissimi mentre sul fondo si ha un deposito. È patogeno per cavie, conigli e gattini, inoculato sia per sottocute, sia in addome, giugulare, trachea e sacco congiuntivale. È stato ritrovato nel sottosuolo.

Sanfelice (11) ricorda l'isolamento di Lombardo Pellegrino e scrive che la specie ha affinità con la *S. violacea* (3° gruppo del Sanfelice).

Krainsky (24) nel 1914 descrive un attinomicete isolato da terra di giardino, con il nome di *Actinomyces viridochromogenes*, le cui caratteristiche sono, in riassunto, le seguenti: colonie di media grandezza, grigioscure, con micelio aereo bianco, che più tardi diventa grigio-azzurro. Il colore delle colonie (micelio vegetativo) arriva fino al nero secondo i sustrati. Il micelio aereo non è sempre formato. Pigmenta in bruno specialmente in presenza di sostanza azotata, e colora in nero i pezzi di patata. Ha spore ovali di 1,2 μ lunghe; non attacca la cellulosa, non ha azione diastasica che debolmente, riduce i nitrati, non è od è solo debolmente proteolitico. Appaiono evidenti le somiglianze fra le due specie.

Waksman (46) torna ad isolare l'attinomicete, notando un diverso comportamento nel vigore di sviluppo fra i singoli ceppi. Sebbene egli emendi la diagnosi di Krainsky, le caratteristiche della specie non appaiono sensibilmente diverse alla lettura della loro descrizione. Egli osserva la formazione di spirali, mentre le spore sono a suo giudizio ovali o rotonde; la pigmentazione e la colorazione delle colonie e del micelio aereo non è diversa. Anche per le reazioni biochimiche non vi sono diversità.

Millard e Burr (31) descrivono come nuova specie e con lo stesso nome *Actinomyces viridis*, un attinomicete patogeno per le patate che non presenta differenti caratteristiche dalle descrizioni di cui sopra. Secondo questi AA., le spore sono cilindriche, le ramificazioni irregolari; i setti presenti, il colore delle colonie del micelio aereo e del pigmento non è indicato diversamenti dagli AA. citati sopra. Ciò che del resto ci è confermato dall'esame delle colture costituite da trapianti originari del ceppo di Waksman e del ceppo di Millard, che abbiamo avuti grazie alla cortesia della direzione del Centralbureau Schimmelcoltures di Baarn (Olanda).

Nel 1934 il Duché (17) descrive come nuova specie un attinomicete a cui pone il nome di *Actinomyces viridis* Duché. Questa specie è caratterizzata secondo l'A., dal suo sviluppo abbondante su mezzi neutri o acidi, dalla efflorescenza precoce verde chiaro, dai talli a contorni netti generalmente emisferici e da un pigmento violaceo. Morfologicamente questa specie ha delle ramificazioni più serrate e più corte dell'*A. albus*. La specie è trovata in associazione con un ceppo di *A. albus* e con uno di *A. lavandulae*. L'A. è persuaso che altri studiosi abbiamo descritto come specie un'associazione del genere.

Noi non abbiamo avuto modo di confrontare il ceppo di Duché, che alla descrizione riteniamo identico ai precedenti. Se così non fosse il suo battesimo è invalidato, e occorrerà designare la specie diversamente.

Secondo Duché (17) un'altra specie, dall'A. indicata come *A. alboviridis* si distingue dall'*A. viridis* per la mancanza di pigmento nel sustrato. Se tale è veramente l'unico carattere differenziale noi lo riteniamo insufficiente ai fini di una diversa specificazione analogamente a quanto si è detto per l'*A. albus* e l'*A. chromogenus.*

Per completare l'esposizione fatta, occorre ancora ricordare che l'*Actinomyces viridis* Lombardo Pellegrino è citato nella memoria del Lieske (27) (pag. 33) e che Wollenweber nel trattato del Sorauer, (pag. 836; 3 v.; 2 parte) illustra la specie, discutendola nei confronti del ceppo di Millard e Burr.

Come si è detto da parte nostra si è effettuato un confronto fra i due stipiti di Waksman e di Millard e Burr. Siamo quindi in grado di stabilire l'identità di questi e di dare insieme ad una diagnosi della specie, non diversa molto del resto dalla prima descrizione, una sinonimia.

Actinomyces viridis Lombardo Pellegrino, 1903
= *Actinomyces viridochromogenes* Krainsky, 1914
= *Actinomyces viridochromogenes* (Krainsky) Waks. et C., 1919
= *Actinomyces viridis* Millard e Burr, 1926
= *Actinomyces viridis* Duché, 1934

Sinonimia dubia:

= *Actinomyces alboviridis* Duché, 1934.

Diagnosi (*): Micelio del sustrato ialino, ramificato irregolarmente; micelio aereo ialino o subialino, settato, fertile, con filamenti che terminano a spirale. Spore ovoidali, di 0,7-1,4 μ circa di diametro.

In coltura il micelio vegetativo si presenta colorato in grigio-scuro, con un micelio aereo che da prima è bianco e poi grigio ceruleo o grigio verde, secondo i sustrati. Nelle colonie molto vecchie il colore incupisce. Pigmentazione del sustrato notevole, da bruno a nero secondo la natura di questo. Odore debole.

(*) Hyphis micelii vegetativi hyalinis, subtilibus, ramosis; hyphis micelii aërii septatis, fertilibus; sporis ellicticis $0,7 \times 1,4$ circiter μ cr.; in culturis coloniis isabellinis vel umbrinis, deinde alboviridibus vel glaucis propter vegetationem aëream.

Habitat: in solo, ac in morbo *Solani nigri.*

Habitat. Isolato dal terreno e da sottosuolo; è patogeno per i tuberi di patata, nei quali induce una forma di scabbia (Millard e Burr).

VIII.

Actinomyces hominis, Actinomyces innominatus.

La terminologia *Actinomyces hominis* ricorre più volte nella letteratura medica sulle attinomicosi, ma analogamente a quanto accade per il *bovis*, non è che un nome magazzino con il quale sone stati indicati isolamenti e colture diverse fra loro. Le attuali maggiori conoscenze delle varie specie di attinomiceti hanno fatto sì che tale nomenclatura sia oggi molto meno in uso; tuttavia noi abbiamo ritenuto utile soffermarci su questa specie poichè siamo venuti in possesso della coltura descritta originariamente da Waksman (46) e riportata poi nel manuale del Bergey (7) sotto il binomio *Actinomyces hominis* Bostroem. Questo attinomicete fu isolato a detta di Waksman dal Foulerton in un caso di ascesso della mano di uomo e probabilmente a causa dell'isolamento umano, l'A. americano si indusse a usare tale designazione.

Dobbiamo anzitutto rilevare che l'attribuire al Bostroem, tale binomio è inesatto, poichè se è vero che il Bostroem isolò e descrisse un attinomicete da caso umano, sta di fatto che egli non usò per questo suo stipite nessuna designazione specifica. La specie di Bostroem fu da noi (3) (1937) ridescritta su di un nuovo isolamento e designata *Actinomyces Bostroemi*, non solo a causa del mancato battesimo da parte dell'A., ma per i suoi caratteri che la distinguono nettamente dalle altre specie note.

Quanto al binomio *A. hominis*, l'esposizione che segue ne dimostra l'ambiguità attraverso le varie e confuse vicende sistematiche.

Si attribuisce al Berestneff (6), talvolta, la paternità di tale appellativo, tuttavia nel lavoro di questo A., che ci è stato possibile consultare ed escludendo la tesi pubblicata a Mosca nel 1897, non vi è traccia di tale nomenclatura. Vi sono illustrati e descritti vari ceppi di derivazione umana ma senza riferimento ad una determinata specie. Sono invece designate con termini specifici talune colture di origine ambientale, come l'*A. graminearum*, che è identico all'*A. albus* (cfr. Tab. 1), l'*A. violaceus* e l'*A. albidofuscus* ecc. che potranno essere identificati con specie già note.

Negli anni fra il 1896 e 1899 diversi AA. fanno uso della terminologia *Streptothrix hominis* per varie colture di derivazione umana.

Ricordiamo senza pretendere di essere completi, i lavori di Flexner (18), di Rullmann (40), di Hayo Bruns (8). L'isolamento di quest' ultimo è ribattezzato da Chalmers et Christopherson (9) *Nocardia Bruni*, come vedremo a seguito.

Nel lavoro dello Schabad (44) del 1904, sono passati in rassegna molti isolamenti di derivazione umana, compresi sotto le terminologie mediche " Actinomycosis atypica pseudotubercolosa „ o anche " Streptothricosis hominis „. Va detto subito che alcuni di questi ceppi compreso quello dello stesso Schabad, sono riferibili ed identificabili con il *Proactinomyces asteroides* (Eppinger) nobis (cfr. Baldacci) mentre di altri è assai difficile la loro identificazione come i ceppi di Sebrazès e Rivière (*Nocardia Rivieri* Verdun) e di Ferré e Faguet (cfr. Baldacci). Infine alcuni sono riportati da noi in questo stesso lavoro ad *A. albus* (ceppi di Scheele e Petrusky).

Già con il Foulerton (19) la terminologia *hominis* è usata non come designazione specifica ma solo in rapporto alla provenienza. L'A. enumera difatti quattro isolamenti di derivazione umana mentre riconosce successivamente l'identità di alcuni di essi (ceppi 3 e 4) con l'*A. sulphureus* e dei rimanenti (ceppi 1 e 2) scrive che appartengono a microrganismi difficilmente classificabili. Secondo Sartory (42) esiste anche una *Oospora* (*Actinomyces*) *hominis* Ridet 1911, simile ai ceppi 1 e 2 di Foulerton.

Una classificazione di queste specie, di cui non restano che sommarie indicazioni dateci dai loro AA., si presenta oggi a nostro avviso difficile ed inutile Di questo parere non furono i ricordati Chalmers et Christopherson (9), che tentarono una classificazione delle numerose specie di attinomiceti patogeni o saprofiti, e ai quali si deve riconoscere il merito di avere dato un inquadramento che è stato di notevole chiarificazione per gli studiosi successivi. Per quanto riguarda la terminologia *A. hominis*, gli AA. avendo voluto attribuirla ad un ceppo del Berestneff, si sono trovati nella necessità di escludere una serie di isolamenti e specie che erano stati indicati con questo stesso binomio e di creare per contro nuovi nomi a contrassegnare specie oggi mal identificabili. La stessa *Nocardia hominis* (Berestneff) Chalm. et Chr. è illustrata con questi caratteri: sez. parassitica, subz. minora; sviluppo iniziale a 22° e 37° C., aerobio e anaerobio, sviluppo in gelatina appena percettibile. A noi sembra che questo sia troppo poco per diagnosticare una specie e che in particolare sia ben difficile con queste sole indicazioni tornare ad identificare la specie in nuovi isolamenti. Ciò che è poi lo scopo principale di queste revisioni critiche. Lo stesso si deve dire per le nuove combinazioni: *N. Berestneffi*, *N. Bruni*, *N. Foulertoni*, *N. londinensis*, *N. appendicis*. Solo di quest' ultima si può sicuramente

asserire che è sinonima di *A. sulphureus*, corrispondendo alla *S. hominis* III Foulerton già identificata dall'A. come si è detto sopra.

Anche nella memoria di Orskov (33) si può leggere una nuova combinazione come: *Actinomyces hominis* Landsteiner ed infine Bayne-Jones (5) fa uso recentemente della specificazione " *hominis* „ per una coltura isolata da paziente affetto da attinomicosi, ma senza riferimento sistematico.

In conclusione, da quanto è sopra esposto, noi riteniamo che il binomio: *Streptothrix hominis* e *Actinomyces hominis* siano da considerarsi " nomina ambigua „ e come tali da abolire nella sistematica degli attinomiceti. Per quanto riguarda il ceppo di cui si è detto in principio, e cioè la specie studiata da Waksman e Curtiss, descritta da questi AA., con tale terminologia è evidente che ad essa deve essere attribuito altro nome, per il quale proponiamo: *Actinomyces innominatus*. Lo studio da noi effettuato su di un trapianto rimessoci dall'American Type Culture Collection ed etichettato " *A. hominis*, Bostroem 551 „ ci permette di dare a seguito, come per le altre specie, una diagnosi, che del resto corrisponde alla originaria descrizione degli AA. americani.

Actinomyces innominatus n. nomen.
= *Actinomyces hominis* Waksman (sub. *A. hominis* Bostroem) nèc *Streptothrix* (*Actinomyces*) *hominis* AA.

Diagnosi (*). Colonia umida, cerosa, molle, increspata, fortemente rilevata, aderente al sust ato, di color giallo-verde, di crescita lenta. Il micelio aereo è raro, a ciuffi, prima bianco poi verde-oliva fino a grigio. Pigmenta la patata in pezzi e l'agar. In acqua peptoglucosata sviluppa con formazione di una pellicola giallognola o rossobruna. Non fluidifica la gelatina che scarsamente. Possiede invertasi.

Il micelio fertile è costituito da ife ondulate, debolmente ramificate, con spore ovali di 0,7 × 1,1-1,4 μ.

Riassunto

1. L'A. studia su 26 ceppi le caratteristiche morfologiche, colturali e biochimiche dell'*Actinomyces albus*, dandone una dettagliata diagnosi.

(*) Hyphis micelii vegetativi usitato more; hyphis micelii aërii raris, sinuosis, parce ramosis; sporis 0,7 × 1, 1-1,4 μ cr.; in culturis coloniis viridibus vel flavovirentibus, umidis, cum vegetatione aërea veluti pulvere albo aspersa.

Habitat: in morbo actinomicotico hominis.

2. L'esame della precedente letteratura e le considerazioni critiche svolte hanno permesso di stabilire una sinonimia di 30 binomi, fra i quali sono da ricordare, oltre la *Cladothryx dichotoma* Macé, 1888 nec Cohn, le seguenti: *Cladothryx invulnerabilis* Acosta e G. Rossi, *Actinomyces chromogenus* Gasperini, *Cladothryx odorifera* Rullmann, *Actinomyces thermophylus* AA. p. p., *Actinomyces Sanninii* Ciferri, *Actinomyces Almquisti* Duché, *Actinomyces Gougeroti* Duché.

3. Una discussione sulle caratteristiche biologiche della specie *A. chromogenus, odorifer* e *thermophylus*, permette di stabilire che tali attività non costituiscono caratteri specifici differenziali ma sono comuni a molte altre specie, al punto che potrebbero utilmente essere utilizzate per la formazione di un sottogenere.

4. In seguito alla presenza fra i ceppi in studio di alcuni di essi etichettati con i nomi che seguono, vengono discusse le specie: *A. farcinicus*, *A. albidoflavus*, *A. alboflavus*, *A. aureus*. Per quanto riguarda le ultime due si conclude che è necessario uno studio comparativo di tutte le specie che gravitano intorno alla specie *A. flavus* (gruppo del *flavus*); per la prima si osserva, che se pure alcuni ceppi così etichettati sono riportabili all'*albus*, è necessario tuttavia rifarsi al lavoro e possibilmente al ceppo di Nocard prima di stabilire la reale entità della specie.

5. È studiata la specie *Actinomyces viridis*, il cui primo battesimo e la cui prima descrizione risale a Lombardo Pellegrino. Questa specie è stata descritta tre volte come nuova specie e — ciò che è ben più strano — con lo stesso nome; infine una quarta volta è stata descritta con nome affine (*viridochromogenus*).

6. È dimostrata l'inesattezza della terminologia *Actinomyces hominis* Bostroem, per un ceppo originariamente descritto da Waksman e al quale — dopo avere illustrato le ragioni che ci inducono ad abolire come " nomen dubium „ il binomio *Actinomyces* (*Streptothrix*) *hominis* AA. — è proposto il nome *Actinomyces innominatus*.

SUMMARIUM

Actinomyces albus, A. chromogenus, A. odorifer, A. thermophylus, A. viridis, A. viridochromogenes, A. hominis, A. innominatus: hi sunt actinomycetes, de quibus A. expertus est et anquisivit.

SUMMARY

Twenty-six strains of *Actinomyces albus* are studied and redescribed from morphological, cultural and biochemical standpoints. Many biological activities of *A. chromogenus*, *A. odorifer* and *A. thermophilus* are in common with other species of the same genus, so that they may be considered for sub-generic (not specific) differentiation. A discussion on *A. farcinicus*, *A. alboflavus*, *A. albidoflavus* and *A. aureus* has been originated from mislabeling as *A. albus*; the group including the two last named species (*flavus* group) must be revised. A few strains classified *A. farcinicus* are in no doubt true *A. albus*, but this real specific entity remains to be revised from Nocard's strain. *A. viridis*, for the first time described by Lombardo-Pellegrino, has been redescribed three times as a new species under the same binomial, and the fourth as *A. viridochromogenes*. *A. hominis* Bostroem is an uncorrect determination for the species originally described by Waksmann and Curtiss, and it is renamed *A. innominatus*, the binomial *A.* (*Streptothrix*) *hominis* Auct. being a "nomen ambiguum". In conclusion, 30 binomial are appended in sinonimy to *A. albus*, including *Cladothryx dichotoma* Macé (1888) non Cohn, *C. invulnerabilis* Acosta et G. Rossi, *C. odorifera* Rullm., *Actinomyces chromogenus* Gasp., *A. thermophulus* Aut., p. p., *A.* (*Streptothrix*) *Sanninii* (Cif.) Westerd., *A. Almquisti* Duché, *A. Gougeroti* Duché, and so on.

BIBLIOGRAFIA

(1) Acosta E. Y. e Grande Rossi F., Chronica medico-quirurgica de la Habana, n. 3, 1893.

(2) Almquist E, Zeitschrift f. Hygiene und Infect, **8**, 180-196, 1890.

(3) Baldacci E., Mycopatologia, **1**, 68-76, 1938; **2**, 1939.
Atti Ist. Bot. Pavia, **9**, 243-261; 299-314, 1937; **10**, 125-160, 321.329, 1938. Atti VI Congresso Naz. Microbiologia, Milano (5), 138-147, 1937; Boll. Soc. Ital. Biologia Sper. **13**, 11, 1938.

(4) Baldacci E., Ciferri R., Vaccari E., Atti Ist. Bot. Pavia, **11**, 75-103, 1938.

(5) Bayne Jones S., Journ. Bakt. **10**, 569-576, 1925.

(6) Berestneff N., Zeitschrift. f. Hygiene und Inf. **29**, 94-113, 1898.

(7) Bergey ecc., Manual of Determinat. Bacteriology, 1925.

(8) Bruns H., Centralb. f. Babb. II Abth **26**, 11, 1899.

(9) Chalmers e Christopherson J. B., Ann. of Trop. Med. and Parassit, **10**, 233-276, 1917.

(10) Ciferri R., Rivista di ampelografia, **3**, 1922; Centralb. f. Bakt., II abth. **71**, 80-93, 1927; Rivista di Patologia Vegetale, **17**, 265-281, 1927.

(11) Cohn F., Beiträge z. Biologie d. Pflanzen, **1**, 186-193, 1875.
(12) Cortese F., Boll. Ist. Sierot. Milanese (2), 1931.
(13) De Toni e Trevisan, in Saccardo, Sylloge, VIII, 927-928, 1898.
(14) Drechsler C., Bot. Gazette, **67**, 64-83; 147-168, 1919.
(15) De Rossi G., Microbiologia agraria e tecnica, 1927.
(16) Du Bois Saint-Severin e Mercier, Ann. Méd. Nav. Colon. **63**, 253-260, 1895 e Semaine Med. **15**, 202, 1895.
(17) Duché J., Les Actinomyces du group Albus, 1934.
(18) Flexner S. in Rullmann, 1914.
(19) Foulerton A. G. R., The Lancet (1), 551 e seg., 1910.
(20) Gasperini G., Ann. de Micrographie, **2**, 349-473, 1890; Atti Soc. Toscana Sc. Nat. P. V. VII, 267-277, 1891; Ann. Ist. Igiene, Roma, **2** (n. s.) 167-229, 1892; Atti Soc. Toscana Sc. Nat. P. V. IX, 64-89, 1894.
(21) Gilbert, Zeitschrift f. Hygiene und Inf. **47**, 383-406, 1904.
(22) Grigorakis L., C. R. Acad. Sc. **193**, 540, 1931; ibidem **194**, 641, 1932.
(23) Jensen H. L., Prooc. Linnean Soc. New S. W. **61**, 334-370, 1931.
(24) Krainsky A., Centralb. f. Bakt., II abth. **41**, 649-688, 1914.
(25) Lachner-Sandoval, Uber Strehlenpilze. Strasburgo, 1898.
(26) Lehmann K. B. e Neumann R., Compendio e atlante di Batteriologia, Milano, 1910.
(27) Lieske R., Morphologie und Biologie der Strehlenpilze, 1921.
(28) Lombardo-Pellegrino P., La riforma medica (39), 1065-1067, 1903.
(29) Macé E., Les substances alimentaires etudiés au microscope ecc., Parigi, 1891.
(30) Miehe, Die Selbsterhitzung des Heues, Jana, 1907.
(31) Millard B. e Burr S., Ann. Applied Biology, **13**, 580-644, 1926.
(32) Neukirch, Ueber Strahlenpilze (Actinomyces), Strasburgo, 1902.
(33) Orskov P., Investigations into the morphology of the ray fungi, 1923.
(34) Peglion V., Le Stazioni Sperimentali ital., **33**, 525-531, 1900.
(35) Pinoy E., Bull. Ist. Pasteur, **11**, 929 e seg., 1913.
(36) Pollacci G., Trattato di Micropatologia. IV. Nannizzi A., Repertorio Sistematico dei miceti dell'uomo e degli animali, Siena, 1934.
(37) Puntoni V., Ann. Igiene, Roma, **41**, 1-30 (estratto), 1931; Atti VI Congresso Naz. Microbiologia, Milano. 17-51, 1937.
(38) Rossi-Doria R., Ann. Igiene, Roma, **1**, 399-428, 1892.
(39) Rossi C., Ann. Igiene, Roma, **9**, 693-708, 1905.
(40) Rullmann, Centralbl. f. Bakt., II abth., **2**, 116-117; 701-706; 1896; Münchener Med. Wochenschrift, (29), 1898, (13), 1899, (22), 1902, (36), 1914.
(41) Sanfelice, Centralbl. f. Bakt. I abt.; **36**, 355-367, 1904.
(42) Sartory A., Champignons parasites ecc.
(43) Sauvageau e Radais, Ann. Ist. Pasteur, Parigi, **6**, 242, 1892.
(44) Schabad J. A., Zeitschr. f. Hygiene und Inf., **47**, 41-80, 1904.
(45) Vuillemin P., Les champignons parasites et les mycoses de l'homme, 1931.
(46) Waksman S. A., Soil Science, **8**, 71-207, 1919.
(47) Wollenweber H. W., Berichten Deuts. Bot. Gesells., 39, 26-30, 1921.
(48) Schütze H., Archiv. f. Hygiene, **30**, 35, 1908.

TAVOLA I. — Comparazione dei caratteri di ***A. albus*** e di specie simili.

Nome delle specie	Autore	spore (dimensioni μ)	Colture: m. vegetativo	Colture: m. aereo	Cromogenesi	azione proteolitica in: gelat.	azione proteolitica in: latte	azione diastasica	Inversione saccarosio	osservazioni sul p H	Varie
Cladothryx dichotoma	Macé	+		bianco	+						
Streptothrix Foersteri	Gasperini	ovali (1,0-1,5)	incoloro giall.	bianco (1)	—	+			deb.	sviluppo in alcalinità	(1) Nel lavoro del 1894 è detto di color bianco fino a grigio
Streptothrix n. 2	Almquist	+		bianco	—	+					
Streptothrix n. 3	»	+		bianco	—	—					
Streptothrix alba	Rossi-Doria	+	inc. fino a nero	bianco	—		—				
Actinomyces albus	Krainsky	ovali (1,0)	incoloro	bianco (meno spesso grigio)	—	+		—	—	alcalinizza	
A. albus	Waksman e Curtiss	sferiche, ovali (1,2-1,6 × 1,1-1,4)	bianco o grigio	crema o grigio	—	+	+	+	—	alcalinizza	
A. albus	Jensen	rettangolari (0,4-0,5 × 2-4)	crema o giallo-ocra	bianco	+						
A. albus	Duché	+	bianco-giallo	bianco	—		—			alcalinizza	
Actinomyces chromogenus	Gasperini	ovali (1,5)	ocra fino a nero	bianco	+						
Cladothryx odorifera	Rullmann	+ (1,0)		bianco-cretoso	deb.	+					
Actinomyces thermophylus	Berestneff	+		bianco							sviluppo fra 30° e 60° C.
»	Gilbert	+ (0,5 bis) 0,6	grigio-giallo	grigio		+	+				odore di frutta: spore acid. res.
Actinomyces thermodiastaticus	Bergey	ovali	incoloro	bianco		+	—	+			Temp. massima 65° C.
A. Sanninii	Ciferri	rotonde	incoloro	b. o b. avorio	—	deb.					
A. Almquisti	Duché	+	giallastro	—	—						
A. Gougeroti	Duché	+	verdastro	bianco	—						
A. graminear.	Berestneff	+		bianco		+	—				
Streptothrix gedanensis I	Scheele e Petruscky	+	incoloro	bianco		deb.					Temperat. optimum 37° C.
Streptothrix candida	Petruscky	+	incoloro	bianco		+	+				
Streptothrix Lathridii	Petruscky	+	incoloro	bianco		+	+				
Cladothryx invulnerabilis	Acosta e G. Rossi	+		bianco	—	+					Pigmenta la patata in coltura

TABELLA II. — Caratteri delle colonie di ***A. albus***.

Ceppi	Colore m. vegetativo	Micelio aereo		
		formazione	colore	
Mc 1	incoloro	+ +	bianco	
Mc 2	»	+ + +	»	*Legenda:*
Ba 1	»	±	»	— m. a. raro
O 1	»	+	»	± m. a. che si forma irregolarmente in coltura
O 3	»	+	»	+ m. a. costante, scarso
O 5	»	±	»	++ m. a. costante, discreto
O 6	»	±	»	+++ m. a. cost., abbond
AP 1	»	±	»	
M 1	»	±	»	
C 13 R 5	grigio-bianco	+ + +	bianco cremeo	
C 14	incoloro	+	bianco	
R 1	»	—	»	
R 3 C 6	»	—	»	
IP 30	»	+ + +	»	
B 1062	»	±	»	
AF 2	»	+ + +	candido	
AF 3	»	+ + +	bianco cremeo	
AF 4	»	+ + +	bianco grigio	
AU	»	+	bianco	
SA	»	±	»	
FA	grigio-bianco	+	»	
LB	incoloro	+	»	
7 (R)	»	+ + +	bianco grigio	
S	»	+	bianco	
O 2	»	+	»	
Sil	»	+ +	»	

Tabella III. — Caratteri biochimici dell' *Act. albus*.

Ceppi	Pigmentazione			Colture in gelatina				Colture in amido			Invertasi (2)		Anaerobiosi		Osservazioni
	in substrato (1) agarizzato	in acqua peptoglucos.	p H (3) finale	pigmentazione	fluidificazione (7) dopo 30 giorni	fluidificazione (7) dopo 70 giorni	p H (8) finale	pigmentazione colonie (9)	pigmentaz. substrato	reazione (10)	sacc.	gluc.	esito	sustrato	
Mc 1	+	+ (4)	8,1	—	0,8	5,2	8,4	—	—	+	+	—	traccie	Czapek	(1) Terreno nutritivo glicerinato
Mc 2	—	+ (4)	8,2	—	1,0	5,0	7,1	—	—	—	+	—	traccie	nutrit. glic.	
Ba 1	—	+ (6)	7,9	—	1,0	5,0	8,5	incoloro	—	+	+	—			(2) Analisi in soluzioni di Czapek al nitrato e saccarosio (vedi nota p.)
O 1	+	+	8,2	—	1,0	4,5	8,2	incoloro	—	—	+	+			
O 3	+	+	8,1	—	2,0	5,9	8,1	giallognolo	+	+	+	—			(3) p H (controllo e partenza) = 7,0
O 5	—		8,1	—	1,5	5,6	8,1	»	—	+	+	—			
O 6	+	+ (6)	8,1	—	2,0	6,0	8,4	incoloro	—	+	+	—			(4) assai intensa
AP 1	+	+	7,6	debole	2,0	5,5	8,2	giallognolo	—	—	+	—			(5) con tonalità violacea
M 1	+	+	8,1	debole	2,0	6,0	8,2	»	—	+	+	—			(6) con tonal. rosso-tiziano
C 13 R 5	+	+	8,2	—	0	5,0	7,2	—	—	—	+	+	+	nutrit. glic.	(7) l'attività proteolitica è espressa in cm. d'altezza di gelatina fluida. Il n. 6 corrisponde alla fluidificazione totale
C 14	—	+	8,4	—	1,5	5,2	8,5	giallognolo	+	+ + +	+	—	traccie	Czapek	
R 1	+										+	—			
R 3 C 6	+												—	nutrit. glic.	
IP 30	+ (4)	—	8,2	—	0	0	—	—	—	—	+	—			(8) controllo: p H = 6,4
B 1062	+	—													(9) s'intende il m. vegetativo; il m. aereo è sempre bianco
AF 2	+	+ (6)	8,2	giallo-oro	2,0	6,0	8,1	giallognolo	—	—	+	—			
AF 3	+ (5)	+ (6)	7,6	debole	2,0	5,8	8,2	»	+	+	+	—			(10) Leggenda: — negativa, + amidodestrine, + + eritrodestrine, + + + acrodestrine.
AF 4	+ (4)	+ (6)	8,2	debole	1,5	5,5	8,1	»	—	+	+	—			
AU	—	+	8,4	debole	0,9	4,7	8,4	incoloro	+	+ +					
SA	—	+ (6)	8,0	—	2,0	5,5	8,2	giallognolo	+	—	+	—			
FA	+	—						incoloro	—	+ + +					
LB	—	+	8,2	—	1,5	5,5	8,0	giallognolo	—	+					
O 2	—	+	8,6	—	2,0	6,0	8,1	»	—	—					
Sil	—	+	8,1	—	1,5	5,5	7,2	»	—	—					

R. UNIVERSITÀ DI PAVIA
ISTITUTO BOTANICO « GIOVANNI BRIOSI »
E
LABORATORIO CRITTOGAMICO ITALIANO
DIRETTI
dal Prof. GINO POLLACCI

LA TEORIA DEL RACCORDO E UN PRIMO STADIO ONTOGENETICO DELL' APPARATO CRIBRO-LEGNOSO DI NICOTIANA RUSTICA L.

Nota del Prof. FLAVIO GIUSEPPE ELISEI
Assistente al R. Istituto Botanico

Con 9 figure nel testo

Molte Dicotiledoni hanno plantule diarche nella radice e nello ipocotile. Queste due parti della plantula sono cioè percorse nella loro lunghezza da due fasci floematici e da due fasci xilematici tra loro alterni; i primi stanno nel piano di separazione tra i due cotiledoni *(piano intercotiledonare),* e gli altri due stanno nel piano di simmetria dei cotiledoni *(piano cotiledonare).*

Nella parte alta dell'ipocotile ciascun fascio floematico è continuato da due fasci floematici, che, tra loro divergendo come le branche di un *V* eretto, penetrano l'uno in un cotiledone e l'altro nell'altro cotiledone, nella cui parte inferiore diventano gradualmente collaterali da alterni che erano nella regione superiore dell'ipocotile.

Secondo la maggioranza degli AA. i due fasci floematici alterni della struttura diarca radicale-ipocotilare delle plantule di questo tipo hanno ciascuno il valore di due fasci floematici tra loro accollati, i quali poi tra loro si disgiungono nella parte alta dell'ipocotile.

Questi AA. ammettono quindi uno sdoppiamento, nella parte alta dell'ipocotile, dei due fasci floematici alterni radicali ed ipocotilari, ed è in tal modo che essi spiegano la comparsa nella parte alta dell'ipocotile dei quattro fasci floematici alterni già considerati (Fig. 1, schema A).

La teoria di Van Tieghem (della identità, almeno parziale, tra lo xilema alterno radicale e lo xilema collaterale cotiledonare; tra il floema alterno radicale e il floema collaterale cotiledonare) e la teoria di Chauveaud (teoria ontogenetica vascolare, o dell'accelerazione basifuga, o delle sostituzioni o apposizioni successive) ammettono entrambi lo sdoppiamento floematico sopra detto, ed anche per questo esse non sono così diverse l'una dall'altra come a prima vista potrebbe sembrare.

L'A. della teoria ontogenetica vascolare, il botanico francese G. Chauveaud, ha elaborato la sua teoria in venti anni, e cioè dal

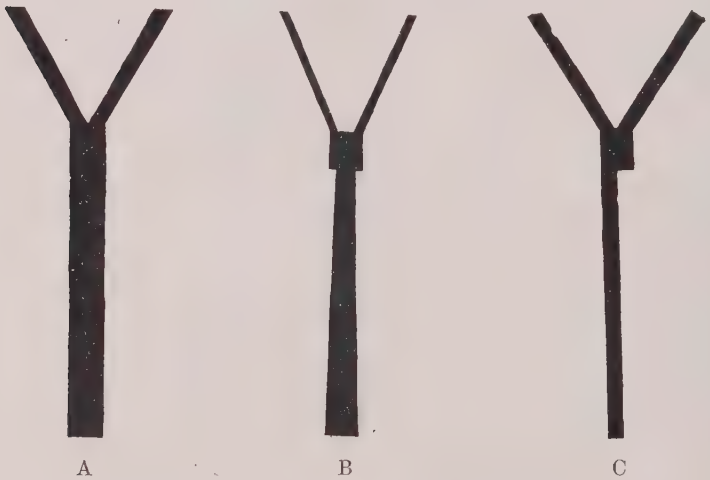


Fig. 1. — *Schema A:* Fascio floematico di una plantula diarca nella radice e nell'ipocotile, nel suo decorso in queste due parti della plantula, secondo Van Tieghem e Chauveaud; *schema B:* lo stesso secondo la teoria del raccordo; *schema C:* lo stesso secondo quanto ha osservato l'A.

1891 al 1911. Dopo altri dieci anni di studio sull'apparato cribro-legnoso delle plantule, ha emesso una nuova teoria, la teoria del *convergente* (1921).

Secondo questo A. le Fanerogame mostrano una unità elementare cribro-legnosa, primitiva ontogeneticamente e filogeneticamente, da lui chiamata *convergente*, costituita da un fascio xilematico alterno situato tra due fasci floematici alterni; fasci che la radice, l'ipocotile e il cotiledone possiedono in comune.

La struttura vascolare diarca sopra descritta è data secondo Chauveaud da due *convergenti*, tra loro accollati con i floemi nella

radice e nell'ipocotile, i quali poi nella parte alta di questo organo diventano tra loro indipendenti, allontanandosi l'uno dall'altro, provocando con questo *lo sdoppiamento* dei due fasci floematici radicali-ipocotilari.

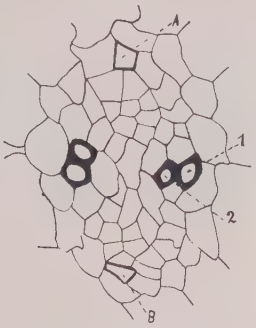


Fig. 2. — *Nicotiana rustica* L. — Cilindro centrale al mezzo dello ipocotile. X 680.

Pochi AA. hanno negato e pochissimi AA. oggi negano lo sdoppiamento dei fasci floematici nella parte alta dell'ipocotile. Questi AA. (Gravis e suoi allievi, Dangeard, Bugnon, ecc.) seguono la teoria del raccordo, che in memoria dell'anatomo belga Gravis

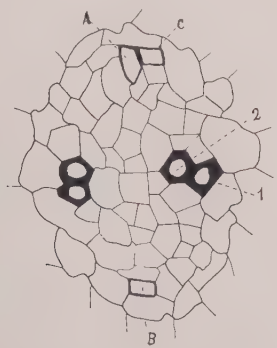


Fig. 3. — *Nicotiana rustica* L. — Cilindro centrale nella parte alta dell' ipocotile. X 680.

A., recentemente scomparso (1937), si può giustamente chiamare anche teoria vascolare del Gravis.

Secondo detta teoria, i due fasci floematici alterni radicali-ipocotilari non si sdoppiano nella parte alta dell'ipocotile, ma ter-

minano a questo livello della plantula. Ciascuno di essi è continuato da due fasci floematici, appartenenti l'uno ad un cotiledone e l'altro all'altro cotiledone, dove sono collaterali, mentre sono alterni nell'ipocotile e contigui, con la loro estremità inferiore, all'estremità superiore di un fascio floematico radicale-ipocotilare alterno della struttura diarca (Fig. 1, schema B). La presenza di questi fasci floematici cotiledonari simula lo sdoppiamento, nella parte alta dell'ipocotile, dei fasci floematici radicali-ipocotilari.

Nessuna ricerca dettagliata è stata però eseguita sui fasci floematici, per dimostrare lo sdoppiamento reale o apparente di essi. Mi è sembrato quindi opportuno riprendere lo studio di questo problema. Come materiale di ricerca ho scelto una giovanissima plan-

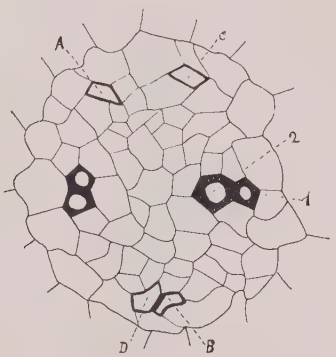


Fig. 4. — *Nicotiana rustica* L. — Cilindro centrale nella parte alta dell'ipocotile, ad un livello superiore a quello della Fig. 3. X 680.

tula di *Nicotiana rustica* L., lunga solo qualche millimetro, dalla quale ho ottenuto col microtomo una serie ininterrotta di sezioni trasversali, tutte dello spessore di 5 micron. La plantula è stata fissata col liquido di Juel (cloruro di zinco gr. 2, acido acetico glaciale cc. 2, alcool a 50° cc. 100), e le sezioni sono state colorite con ematossilina Delafield e con safranina sciolta in acqua distillata (nella quale è stata fatta bollire un'ora e poi filtrata).

La radice e l'ipocotile sono diarchi. I due fasci floematici radicali-ipocotilari sono costituiti ciascuno da un sol vaso cribroso, accollato al periciclo (Fig. 2, *A* e *B*).

Nella parte alta dell'ipocotile a questo vaso cribroso è accollato un nuovo vaso cribroso; essi poi tra loro divergono e penetrano l'uno in un cotiledone e l'altro nell'altro cotiledone. I due

nuovi vasi cribrosi hanno la loro estremità inferiore accollata per alcune diecine di micron al vaso floematico radicale-ipocotilare corrispondente. Uno di essi è situato a destra e l'altro a sinistra di questo elemento conduttore (Figg. 3 e 4).

I quattro vasi cribrosi (Figg. 5 e 6, *A B C D*) penetrano due a due in un cotiledone differente, nella cui parte inferiore diventano da alterni gradualmente collaterali.

Da questa breve descrizione risulta poco confermata la teoria del raccordo, alla quale sono riferibili solo i vasi cribrosi *C* e *D*, mentre gli altri due vasi cribrosi *A* e *B*, a lungo decorso e quindi certamente più importanti morfologicamente e fisiologicamente, si

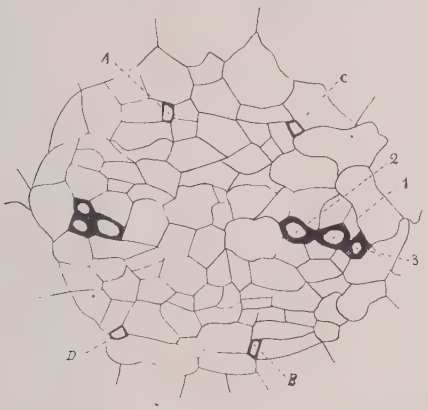


Fig. 5. — *Nicotiana rustica* L. — Cilindro centrale nella parte alta dell'ipocotile (livello superiore a quello della Fig. 4). X 680.

comportano esattamente secondo quanto ha supposto Van Tieghem (v. i tre schemi della Fig. 1).

Si possono anche ammettere i due *convergenti* di Chauveaud, supponendo però che ciascuno di essi sia incompleto, che manchi cioè di un suo floema nella radice e in quasi tutto l'ipocotile. Ma non posso seguire le rimanenti idee di questo A., perchè ho potuto ben osservare una identità tra floema alterno e floema collaterale.

Consideriamo adesso dettagliatamente uno dei due fasci xilematici alterni radicali-ipocotilari.

Il fascio legnoso destro è costituito da due vasi che disposti in lamina radiale percorrono la radice e l'ipocotile, e dei quali il più esterno è accollato al periciclo. Indicherò quest'ultimo con *1* e l'altro con *2* (Fig. 2).

Nella parte alta dell'ipocotile, ad un livello che mostra i quattro floemi tra loro allontanati, *compare all'esterno di 1, e cioè tra questo e il periciclo, un nuovo vaso che indico con 3*, il quale è anche esso, a questo livello, alterno (Fig. 5). Subito più in alto a destra di *1*

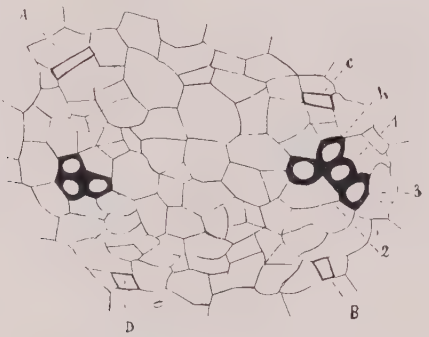


Fig. 6. — *Nicotiana rustica* L. — Cilindro centrale nella parte più alta dell'ipocotile. X 680.

si mostra il vaso *4*, che secondo la nomenclatura e il modo di vedere di Chauveaud è un vaso intermediario (Fig. 6). Un'ottantina di micron più in alto *1* termina a punta.

La base cotiledonare mostra tre vasi alterni (Fig. 7), che uniti

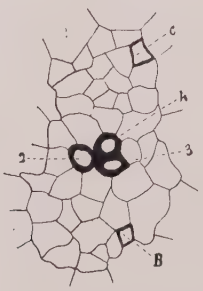


Fig. 7. — *Nicotiana rustica* L. — Apparato cribro-legnoso alla base del cotiledone destro. X 680.

però con due linee ideali a ciascun fascio floematico, formano un *V* coll'apice rivolto verso l'asse della plantula, anzichè verso la periferia di questa, come avviene nella vera disposizione vascolare alterna. I tre vasi legnosi sono *2*, *3* e *4* dei livelli inferiori.

Poco più in alto (Fig. 8) termina *2* e compare *5*, e così *4*, che nell'ipocotile poteva considerarsi come intermediario, adesso è alterno, secondo il modo di vedere di Chauveaud.

Ad un livello leggermente superiore, sempre nella parte inferiore del cotiledone, *3, 4, 5* diventano perfettamente collaterali e *4* si mostra quasi all'esterno di *3* e di *5* (Fig. 9).

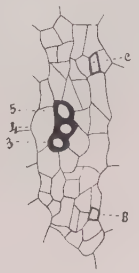


Fig. 8. — *Nicotiana rustica* L. — Apparato cribro-legnoso nella parte inferiore del cotiledone destro (livello leggermente superiore a quello della Fig. 7). X 680.

Da questo rapido, ma dettagliato esame di uno xilema della plantula di *Nicotiana rustica* L. resterebbe invece confermata la teoria del raccordo, specialmente per la comparsa del vaso legnoso *3*, alterno ed esterno, nella parte alta dell'ipocotile.

Secondo detta teoria *1* e *2* rappresenterebbero un fascio xilematico alterno radicale, e *3* e *4* rappresenterebbero invece l'estre-

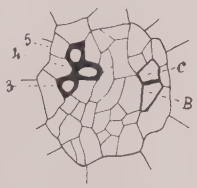


Fig. 9. — *Nicotiana rustica* L. — Apparato cribro-legnoso nella parte inferiore del cotiledone destro (livello leggermente superiore a quello della Fig. 8). X. 680.

mità inferiore di un fascio xilematico collaterale cotiledonare, anche esso alterno in questo suo tratto inferiore e in contatto col fascio alterno radicale.

Dalla presente nota risulta che la costituzione vascolare delle plantule è ancora molto " irta di punti oscuri „ (Buscalioni, ecc.,

v. bibl.), ma è molto interessante notare che l'antica (1860) e gloriosa teoria di Van Tieghem, creduta oggi da quasi tutti gli AA. completamente inesatta (v. per es. Cappelletti), possa almeno parzialmente corrispondere al vero.

Sono convinto che le nostre conoscenze sull'apparato conduttore delle plantule resteranno ancora per lungo tempo incerte e scarse, se non si moltiplicheranno gli studi molto dettagliati simili a quelli del Lenoir M., per esempio.

RIASSUNTO

L'A. ha studiato l'apparato conduttore di una giovane plantula di *Nicotiana rustica* L. La morfologia di detto apparato è riferibile in parte alla teoria della torsione e in parte alla teoria del raccordo.

SUMMARIUM

A. inspexit apparatum conductorem in nova plantula *Nicotianae rusticae* L. Forma huius apparatus referenda est ad id quod italice dicitur *teoria della torsione* et *teoria del raccordo.*

Pavia, R. Istituto Botanico, gennaio 1939 XVII.

BIBLIOGRAFIA

1) Avery G. S. — *Structure and germination of tobacco seed and the developmental anatomy of the seedling plant.* American Journ. of Bot., Vol. 20, N. 5, pp. 309-327.

2) Bugnon P. — *Quelques critiques à la théorie de la phyllorhize et d'une façon générale aux théories phylogénetiques fondés seulement sur l'ontogénie des plantes actuelles.* Bull. Soc. Bot. de France, t. 68, pp. 495-506, 1921.

3) — *L'organisation libéro-ligneuse des cotylédons et de l'hypocotyle expliquée par la théorie du raccord chez la Mercuriale* (*Mercurialis annua L.*). Bull. Soc. Linn. de Normandie, s. 7, Vol. 5, pp. 69-106, 1922.

4) — *L'organisation libéro-ligneuse de l'hypocotyle chez la Mercuriale reproduit-elle une disposition ancestrale?* C. R. Ac. Sc., t. 174, p. 1484, 1922.

5) — *Sur l'accélération basifuge dans l'hypocotyle.* Ibid., t. 175, p. 43, 1922.

6) — *Origine, évolution et valeur des concepts de protoxylème et de métaxylème.* Bull. Soc. Linn. de Normandie, s. 7, Vol. 6, 1934, pp. 122-151, 1925.

7) — *Nouvelles remarques sus la théorie de la phyllorhize.* Ibid. pp. 151-162, 1925.

8) — *Sur le rôle de l'accroissement intercalaire dans l'évolution de l'appareil conducteur de la jeune plante.* Ibid., Vol. 10, 1927.

9) — *Racine et différentiation vasculaire.* C. R. de la 51 Session de l'Ass. Français pour l'avancement des Sc., Costantine, pp. 231-233, 1927.

10) — *La théorie du raccord et le cas de l'Echinops Ritro L.* Bull. Soc. Linn. de Normandie, s. 8. Vol. 3, pp. 73-93, 1931.

11) — *La théorie de l'accélération basifuge et le phases évolutives de l'appareil conducteur chez les plantes à graines.* Bull. Sc. de Bourgogne, t. 3, pp. 5-38, 1933.

12) — *Accélération basifuge et phylogénie des plantes à graines.* Bull. Soc. Bot. de France, t. LXXX. pp. 836-838, 1933.

13) — *Sur l'organisation libéro-ligneuse de la tige des Sphenophyllum.* Bull. Soc. de Bourgogne, t. 4, pp. 114-119, 1934.

14) Buscalioni L., Scaramella P., Bernardi L. — *I tumori maligni degli animali superiori ed i loro rapporti morfologici, anatomici e citologici con talune neoformazioni delle piante.* Malpighia, Vol. 34, pp. 343-466, 1935.

15) Cappelletti C. — In *Trattato di Botanica di* Gola G., Negri G., Cappelletti C., pp. 148-152, 180-183, Ed. Unione Tipografico-Editrice Torinese, Torino, 1936.

16) Chauveaud G. — *L'appareil conducteur des plantes vasculaires et les phases principales de leur évolution.* Ann. Sc. Nat. Bot., s. 9, t. 13, pp. 113-436, 1911.

17) — *La constitution des plantes vasculaires révélée par leur ontogénie.* Ed. Payot, Paris, 1921.

18) Chiarugi A. — *L'origine dello stolofillo dalla foglia cotiledonare e l'evoluzione del sistema conduttore per accelerazione basifuga in Tulipa silvestris L.* Nuovo Giorn. Bot. Italiano, Vol. 31, pp. 277-192, 1924.

19) Dangeard P. A. — *Recherches sur le mode d'union de la tige et de la racine chez les Dicotyledons.* Le Botaniste, s. I, pp. 75-125, 1889.

20) — *Observations sur la structure des plantules chez les Phanérogames dans ses rapports avec l'évolution vasculaires.* Bull. Soc. Bot. de France, t. 60, pp. 73-80, 113-120, 1913.

21) Dauphiné A. — *Sur le développement de l'appareil conducteur chez quelques Centrospermées.* Bull. Soc. Bot. de France, t. 60, pp. 312-321, 1913.

22) — *Au sujet de travaux récentes sur l'appareil conducteur des Phanérogames.* Ibid., t. 83, pp. 285-287, 1936.

23) Elisei Fl. G. — *Comportamento del cribro in plantule di Mesembryanthemum.* Nuovo Giorn. Bot. Italiano, n. s., Vol. 38, p. 553, 1931.

24) — *Osservazioni sull'ontogenesi dell'apparato cribro-legnoso in Mesembryanthemum.* Rend. Acc. Lincei, Vol. 17, s. 6, I sem., fasc. 7, pp. 569-573, 1933.

25) — *Un caso di identità tra fasci conduttori alterni radicali e fasci conduttori sovrapposti cotiledonari.* Nuovo Giorn. Bot. Italiano, n. s., Vol. 41, pp. 674-692, 1934.

26) — *Nuovo studio dell'apparato cribro-legnoso in plantule di Raphanus sativus.* Rend. Acc. Lincei, Vol. 21, s. 6, I sem., fasc. 2, pp. 99-104, 1935.

27) — *Nuovo studio sul passaggio dalla struttura vascolare alterna alla struttura vascolare sovrapposta.* Atti Ist. Bot. R. Università di Pavia, s. IV, Vol. VII, pp. 103-116, 1936.

28) — *Ricerche sui rapporti tra lo xilema alterno e lo xilema collaterale.* Atti Ist. Bot. Univ. di Pavia, s. IV, Vol. IX, pp. 11-121, 1936.

29) — *Considerazioni sui vasi legnosi chiusi pluricellulari e sui tubi cribrosi pluricellulari.* Ibid., Vol. VIII, pp. 337-342, 1936.

30) — *Risposta ad Andrea Dauphiné su alcune questioni relative all'apparato cribro-legnoso delle plantule.* Ibid., Vol. IX, pp. 151-154, 1936.

31) — *L'apparato conduttore nelle plantule di Anthemis nobilis L.* Ibid., Vol. IX, pp. 191-200, 1937.

32) — *Il metodo Brunotte applicato allo studio dell'apparato cribro-legnoso delle plantule.* Ibid., Vol. IX, pp. 201-208, 1937.

33) — *Alcuni casi di identità tra xilema alterno e xilema collaterale osservati in plantule intere rese trasparenti coll'ipoclorito di sodio.* Ibid., pp. 209-221, 1957.

34) — *Nuovi casi di identità tra xilema alterno e xilema collaterale osservati in plantule intere rese trasparenti con ipoclorito di sodio.* Ibid., pp. 287-297, 1937.

35) Francini E. — *Lo sviluppo del sistema conduttore in plantule di Hydrastis canadensis L.* Nuovo Giorn. Bot. Ital., n. s., Vol. 38, pp. 335-357, 1931.

36) Galgano M. — *Lo sviluppo del sistema conduttore nelle plantule di Opuntia vulgaris Mill.* Ibid., Vol. 37, pp. 527-592, 1930.

37) Gerard R. — *Recherches sur le passage de la racine à la tige.* Ann. Sc. Nat. Bot., s. 6, Vol. II, p. 276-430, 1881.

38) Gravis A. — *Recherches anatomiques sur les organes végétatifs de l'Urtica dioica L.* Mém. cour. et Mém. des Sav. Etr. Acad. Roy. de Belgique, t. XLVII, 1884.

39) — *Recherches anatomiques et physiologiques sur le Tradescantia virginica L.* Ibid., t. LVII, 1889.

40) — *Connexions anatomiques de la tige et de la racine.* Arch. Ist. Bot. Univ. Liège, Vol. VI, 1927, pp. 1-10, 1919.

41) Holden H. S., Bexon D. *On the seedling structure of Acer pseudoplatanus.* Ann. of Botany, Vol. 37, pp. 571-594, 1923.

42) Lenoir M. — *Début de la différenciation vasculaire dans la plantule des Veronica.* C. R. Ac. Sc. Paris, Avril 7, 1913.

43) — *Évolution du tissu vasculaire chez quelques plantules de Dicotyledons.* Ann. Sc. Nat. Bot., s. 10, t. II, pp. 1-123, 1920.

44) Menarini D. — *Differenziazione degli elementi legnosi in plantule di Leguminose.* Rend. Acc. Lincei, Vol. 19, s. 5, I sem., fasc. 10, pp. 741-747, 1934.

45) Messeri A. — *Lo sviluppo del sistema conduttore in Zamia media Jacq.* Nuovo Giorn. Bot. Italiano, n. s., Vol. 37, pp. 461-509, 1930.

46) — *Differenziazione intercalare in fasci radicolari ed ipocotilari di plantule di Conifere.* Rend. Acc. Lincei, Vol. 19, s. 6, I sem., fasc. 3, 1934.

47) — *Ricerche sulla morfologia della plantula nelle Conifere.* Nuovo Giorn. Bot. Italiano, n. s., Vol. 42, pp. 267-363, 1935.

48) — *Lo sviluppo del sistema conduttore in plantule di Torreya californica* Torr. Ibid., Vol. 41, pp. 163-167, 1934.

49) Messeri E. — *Ricerche sullo sviluppo del sistema vascolare in alcune Monocotiledoni.* Ibid., Vol. 32, pp. 217-356, 1925.

50) Scatizzi A. — *Differenziazione del sistema conduttore in plantule di Ephedra altissima Desf.* Ibid., Vol. 44, pp. 376-380, 1937.

51) Sterckx R. — *Recherches anatomiques sur l'embryon et les plantules dans la famille des Rénonculacées.* Arch. Ist. Bot. de Liège, Vol. 2, 1900.

52) Tombon S. — *Sur le sense basipète de la différenciation vasculaire dans les traces foliaires.* Observation nouvelles. Bull. Soc. Bourgogne, t. VII, 1937.

53) Thiel A. F. — *Vascular anatomy of the transition region of certain Solanaceous plants.* Botanical Gazette, Vol. 94, pp. 598-604, 1933.

54) Tronchet A. — *Recherches sur les types d'organisation les plus répandus de la plantule des Dicotyledons.* Arch. de Bot., t. IV, Mém. I, 1930.

55) Van Tieghem Ph. — *Traité de Botanique.* Deuxième édition, Paris, 1891.

R. UNIVERSITÀ DI PAVIA
ISTITUTO BOTANICO « GIOVANNI BRIOSI »
E
LABORATORIO CRITTOGAMICO ITALIANO
DIRETTI
dal Prof. GINO POLLACCI

SULLA MORFOLOGIA DELL'APPARATO FLOEMATICO DELLA PLANTULA DICOTILE DIARCA

Nota del Prof. FLAVIO GIUSEPPE ELISEI
Assistente al R. Istituto Botanico

Con tre figure nel testo

La morfologia dell'apparato floematico, considerato nel suo primo stadio di sviluppo, è restata finora quasi sconosciuta nonostante le numerose ricerche eseguite sul sistema conduttore delle plantule. Un buon punto di partenza per lo studio di questa morfologia avrebbero potuto costituire i lavori del botanico francese M. Lenoir (1), ma questi lavori sono stati trascurati da tutti gli AA., dei quali uno dei più noti, G. Chauveaud, li ha anche considerati indegni di stampa (2).

Fin dal 1931 mi sono occupato del sistema cribro-legnoso delle plantule dicotili diarche, che sono poi quelle sulle quali più che altro si sono basati i sostenitori della teoria della torsione, della teoria del raccordo e della teoria ontogenetica vascolare. La conclusione più importante alla quale sono giunto con queste ricerche, abbastanza numerose, ma specialmente molto dettagliate, è la dimostrazione, anche fotografica, della esistenza di vasi cribrosi e di vasi legnosi, pluricellulari o unicellulari, ciascuno dei quali è alterno nel suo tratto inferiore e collaterale nel suo tratto superiore.

(1) Lenoir M. — *Début de la différenciation vasculaire dans la plantule des Veronica.* C. R. Ac. Sc., Paris, Avril 7, 1913.

— *Évolution du tissu vasculaire chez quelques plantules de Dicotyledons.* Ann. Sc. Nat. Bot., s. 10, t. II, pp. I-123, 1920.

(2) Chauveaud G. — *Remarques sur une défense nouvelle de la rotation du faisceau.* Ann. Sc. Nat. Bot., s. 10, t. II, pp. LXV-LXXI, 1920.

Poichè la teoria ontogenetica di Chauveaud si basa molto chiaramente sulla inesistenza di tali elementi conduttori, partecipi ognuno di due disposizioni vascolari differenti, mi sono convinto che questa teoria non corrisponde alla realtà.

Non ho creduto invece questi risultati sufficienti per negare la teoria del raccordo, che secondo il mio parere ammette essa pure, come la teoria della torsione, una identità tra floema alterno e floema collaterale, tra xilema alterno e xilema collaterale, che sono però, per questa teoria, floemi e xilemi cotiledonari, i quali hanno acquistato in basso la disposizione alterna per potere essere contigui con i fasci alterni radicali. Alcuni AA., come il Tronchet A., la Messeri A., ecc. (1), credono che la teoria del raccordo si basi completamente sulla discontinuità (non contatto) iniziale nella ontogenesi tra il sistema cribro-legnoso cotiledonare e quello radicale, e poichè questa discontinuità non è stata riscontrata essi negano e prendono poco o punto in considerazione detta teoria.

Io credo invece che per negare la teoria del raccordo sia necessario ben dimostrare l'esistenza di fasci, floematici o xilematici, che all'inizio della ontogenesi decorrano ininterrotti dalla radice ai cotiledoni, senza essere sostituiti da altri fasci. Certamente questa dimostrazione richiede un esame molto accurato, assai faticoso, perchè due fasci posti sul prolungamento l'uno dell'altro non sono facilmente riconoscibili come due fasci differenti; mentre decidere se esista o no una discontinuità iniziale è una cosa facile, ma non per questo più importante. Se esistessero veramente fasci radicali e fasci cotiledonari tra loro distinti, come vuole la teoria del raccordo, mi sembrerebbe normale che essi si differenziassero in contatto tra loro, data la grande necessità che ha la radice di ricevere subito nutrimento dal cotiledone, e questo acqua dalla radice.

Quindi con le mie precedenti ricerche non ero riuscito a dimostrare vera o falsa la teoria del raccordo. Mi è sembrato allora opportuno riprendere in esame tutto il materiale già da me studiato e del nuovo materiale, e questa volta ho osservato solo il floema.

Lo studio dell'apparato floematico di una plantula è più difficile di quello dello xilema, ma se si pensa che i due fasci xilema-

(1) Tronchet A. — *Recherches sur les types d'organisation le plus répandus de la plantule des Dicotyledones.* Arch. de Bot., t. IV, Mém. I, Caen, 1930.

Messeri A. — *Ricerche sulla morfologia della plantula nelle Conifere.* Nuovo Gion. Bot. Italiano, n. s., Vol. XLII, N. 2, pp. 267-363, 1935.

tici di una plantula dicotile diarca giacciono nel piano di simmetria dei cotiledoni, mentre i due fasci floematici giacciono nel piano di separazione dei cotiledoni, risulta molto chiaramente che il raccordo, o la mancanza del raccordo, sarà più facilmente riconoscibile nei fasci cribrosi che nei fasci legnosi. Il supposto fascio legnoso di un cotiledone e il supposto fascio legnoso radicale che gli corrisponde, giacciono infatti entrambi nel piano di simmetria del cotiledone, e quindi in uno stesso piano, e sono poi in diretta continuazione l'uno dell'altro: uno termina e l'altro lo continua. In queste condizioni, specialmente se i vasi sono corti diventa impossibile o del tutto arbitrario decidere se la sostituzione di vasi con altri vasi rappresenti la sostituzione di un fascio con un altro fascio, oppure la semplice continuazione dello stesso ed unico fascio. Secondo la teoria del raccordo ciascun fascio floematico radicale termina in alto, spesso nella parte alta dell'ipocotile, e a questa sua estremità superiore sono accollati a destra e a sinistra, e quindi di lato, due fasci floematici cotiledonari. Questo supposto raccordo avvenendo lateralmente sarà di conseguenza più facilmente riconoscibile che non quello dello xilema, nel quale il supposto raccordo avviene quasi punta contro punta, nel primo stadio ontogenetico, e il fascio cotiledonare percorre la stessa linea retta di quello radicale.

In base a queste mie nuove ricerche sono oggi in grado di descrivere la morfologia dell'apparato floematico, nel suo primo stadio ontogenetico, della plantula dicotile, diarca nella radice e nell'ipocotile, delle seguenti specie:

Mesembryanthemum Salmii Haw., *M. longifolium* Haw., (Aizoaceae); *Mollugo verticillata* L. (Molluginaceae); *Raphanus sativus* L. (Cruciferae); *Nicotiana rustica* L. (Solanaceae); *Verbena officinalis* L. (Verbenaceae); *Artemisia Absinthium* L., *A. camphorata* Vill. (Compositae).

Questo apparato floematico è costituito da quattro fasci principali, due a lungo decorso e due a breve decorso (Fig. 1). I due fasci a lungo decorso percorrono la radice e l'ipocotile, e formano con due fasci xilematici la struttura diarca di queste due parti della plantula. Penetrano poi ciascuno in un cotiledone differente spostandosi gradualmente dal piano intercotiledonare verso quello cotiledonare, nel quale giacciono in modo completo solo a partire dalla base del lembo cotiledonare. Si prolungano più in alto e formano una parte del floema collaterale della nervatura mediana del lembo cotiledonare.

I due fasci a breve decorso non percorrono la radice nè circa i tre quarti inferiori dell'ipocotile. Si mostrano nella parte alta di

questo organo col loro tratto inferiore, poi penetrano anche essi ciascuno in un cotiledone differente e ne completano il floema collaterale della nervatura mediana del lembo. Nella parte alta dell'ipocotile il fascio a breve decorso di un cotiledone è accollato per alcune diecine di micron al fascio a lungo decorso del cotiledone opposto.

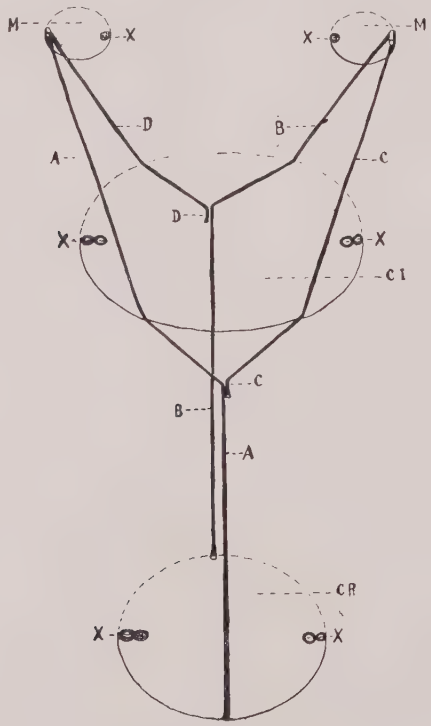


Fig. 1. — Morfologia dell'apparato floematico all'inizio della sua ontogenesi di una plantula dicotile, diarca nella radice e nell'ipocotile. *A* e *B*, fasci a lungo decorso; *C* e *D*, fasci a breve decorso; *X*, xilema; *CR*, cilindro centrale della radice; *CI*, cilindro centrale nella parte più alta dell'ipocotile; *M*, nervatura mediana del lembo cotiledonare.

Poco più in alto, sempre nella parte alta dell'ipocotile, questi due fasci divergono l'uno dall'altro come le branche di un V eretto, per penetrare l'uno in un cotiledone e l'altro nell'altro cotiledone.

I quattro fasci floematici descritti sono costituiti ciascuno da un sol vaso cribroso, il quale è pluricellulare, ma la sostituzione

di un suo articolo con un altro articolo serve solo a prolungare il vaso, non a farlo diventare collaterale da alterno (1).

I fasci a lungo decorso sono alterni nella radice, nell'ipocotile e nella parte inferiore dei cotiledoni (base cotiledonare e picciolo cotiledonare, dove però la disposizione vascolare alterna non è tipica come quella della radice e dell'ipocotile); sono collaterali e normalmente orientati (floema rivolto verso la superficie inferiore

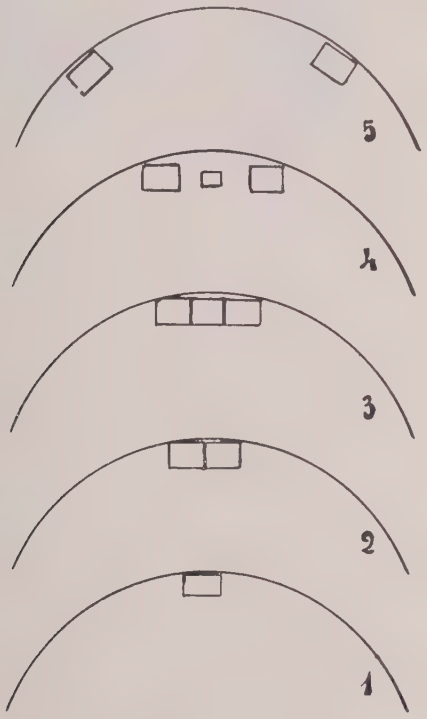


Fig. 2. — Ciascun arco rappresenta il periciclo di un frammento di sezione trasversale eseguita nella parte alta dell'ipocotile. I piccoli rettangoli rappresentano ciascuno un vaso cribroso.

e xilema rivolto verso la superficie superiore dell'embriofillo) solo nel lembo cotiledonare. I fasci a breve decorso sono anche essi alterni

(1) Il fascio a lungo decorso può essere costituito da un vaso cribroso che termina nella parte alta dell'ipocotile, e da un altro vaso cribroso che continua verso l'alto il precedente. Oggi però mi risulta che questo fatto è raro, puramente accidentale; non credo di potergli più attribuire quindi il valore di un raccordo tra floema radicale e floema cotiledonare.

nella parte alta dell'ipocotile, nella parte inferiore dei cotiledoni, e collaterali e normalmente orientati solo nei lembi cotiledonari.

La morfologia dell'apparato floematico della plantula dicotile diarca, considerato nel suo primo stadio ontogenetico, mostra quindi chiaramente che anche la teoria del raccordo non corrisponde alla realtà. Se i sostenitori di detta teoria avessero eseguito un'analisi così dettagliati dei fatti, direi che le estremità inferiori dei due fasci a breve decorso li hanno indotti in errore. Questi fasci infatti simulano molto bene un raccordo tra floema cotiledonare e floema radicale, mentre in realtà costituiscono solo un raccordo tra il floema di un cotiledone e quello dell'altro cotiledone.

A questo proposito è necessario che io parli di un fatto curioso da me alcune volte riscontrato e anche fotografato (1), il quale può indurre in errore pure un attento osservatore. Nella parte alta dell'ipocotile, studiato dal basso verso l'alto in sezioni trasversali, ad un certo livello ciascun floema della struttura diarca si mostra costituito, come più in basso, da un sol vaso cribroso (Fig. 2, n. 1); poco più in alto si vedono invece due vasi cribrosi tra loro accollati lateralmente (Fig. 2, n. 2); più in alto ancora se ne vedono tre sempre tra loro accollati lateralmente e quindi disposti in una fila tangenziale (Fig. 2, n. 3). Ad un livello leggermente superiore si può osservare con molta esattezza che il vaso di mezzo termina a punta, mentre i due laterali si allontanano l'uno dall'altro e penetrano ciascuno in un cotiledone differente (Fig. 2, n. 4 e n. 5). Tutto questo sembra convalidare in modo completo la teoria del raccordo. È infatti molto logico suppore che il vaso di mezzo che termina sia un vaso radicale, e gli altri due rappresentino invece due vasi cotiledonari in contatto con la loro estremità inferiore alla punta superiore del vaso radicale. Ma uno studio molto accurato di questo fatto interessante mi ha indotto a interpretarlo in modo molto differente. La fila tangenziale dei tre vasi sarebbe un'apparenza; i vasi sarebbero due e non tre; sembrerebbero tre, perchè il vaso floematico a breve decorso avrebbe la sua estremità inferiore a forma quasi di un T disposto orizzontalmente, come è mostrato dalla figura 3.

Quindi esistendo una identità tra floema alterno radicale e floema collaterale cotiledonare, anche la teoria del raccordo, come la teoria ontogenetica vascolare di Chauveaud non cosrisponde alla

---

(1) Elisei Fl. G. *Alcuni casi di identità tra xilema alterno e xilema collaterale osservati in plantule intere rese trasparenti coll' ipoclorito di sodio.* Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, s. IV, Vol. IX, pp. 209-221, 1937.

realtà. Le sostituzioni di vasi legnosi con altri vasi legnosi da me più volte riscontrate nella parte alta dell'ipocotile o nella parte inferiore dei cotiledoni, nelle plantule di questo tipo, nei due xilemi del piano cotiledonare, non possono di conseguenza rappresentare un raccordo tra un fascio radicale e un fascio cotiledonare, ma solo una continuazione verso l'alto di uno stesso fascio. Ho potuto del resto mostrare, anche con microfotografie (1), dei casi nei quali queste sostituzioni non avvengono.

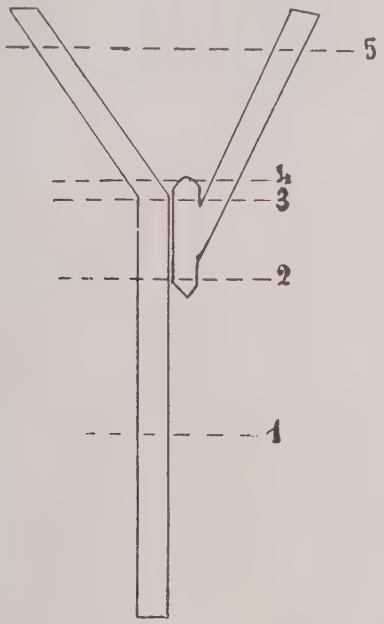


Fig. 3. — Vasi cribrosi della figura 2 visti in sezione longitudinale. I livelli 1, 2, 3, 4 e 5 corrispondono presso a poco a quelli delle sezioni trasversali 1, 2, 3, 4, 5 rappresentate dalla figura 2.

Ritornando alla teoria di Chauveaud, se ammettiamo il convergente di questo A. nella radice e nell'ipocotile delle plantule

(1) Elisei Fl. G. — *Alcuni casi di identità tra xilema alterno e xilema collaterale osservati in plantule intere rese trasparenti coll'ipoclorito di sodio.* Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, s. IV, Vol. IX, pp. 209-221, 1937.

— *Nuovi casi di identità tra xilema alterno e xilema collaterale osservati in plantule intere rese trasparenti con ipoclorito di sodio.* Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, s. IX, pp. 287-297, 1937.

da me osservate, risulta che anche le Fanerogame possono presentare convergenti di tipo primitivo, asimmetrici, e cioè costituiti ciascuno da un fascio xilematico alterno con un sol fascio floematico; fatto questo segnalato finora solo per le Pteridofite (1).

La teoria della torsione o di Van Tieghem resta invece confermata nel suo concetto fondamentale, che secondo il mio parere è l'identità almeno parziale tra floema alterno radicale e floema collaterale cotiledonare, e l'identità almeno parziale tra xilema alterno radicale e xilema collaterale cotiledonare. La presenza però dei fasci floematici a lungo decorso e dei fasci floematici a breve decorso è un fatto non supposto neppure da questa teoria, che dovrà per questo subire alcune modifiche. Così all'inizio dell'ontogenesi vascolare nelle plantule da me studiate i due fasci floematici della struttura diarca radicale-ipocotilare non si sdoppiano come vorrebbe questa teoria; lo sdoppiamento dei floemi nella parte alta dell'ipocotile è solo un'apparenza.

In alcune specie di *Veronica*, così nella *Veronica Beccabunga* L. (v. Lenoir) e nella *Veronica longifolia* L. (2) l'apparato floematico, all'inizio della sua ontogenesi, è formato soltanto dai fasci a lungo decorso, quelli a breve decorso si sviluppano solo in un secondo tempo, dopo la differenziazione dello xilema della struttura diarca. In queste piante si ha così un tipo di passaggio dalla radice al cotiledone che avviene senza sdoppiamento nè di floemi nè di xilemi. Questo è l'unico tipo di passaggio che corrisponde con tutta sicurezza alla realtà, mentre i tre tipi di Van Tieghem e i due della Sargant (3), dato il modo sommario con cui sono stati studiati, possono essere anche soltanto delle apparenze.

---

(1) Chauveaud G. — *La constitution des plantes vasvulaires rélévée par leur ontogénie.* Payot, Paris, 1921.

(2) Elisei Fl. G. — *Un caso di identità tra fasci conduttori alterni radicali e fasci conduttori sovrapposti cotiledonari.* Nuovo Giorn. Bot. Italiano, n. s. Vol. XLI, n. 3, pp. 674-692, 1934.

(3) Van Tieghem Ph. *Traité de Botanique.* Deuxième édition, Paris, 1891.

Sargant E. — *A new Tipe of Transition from stem to root in the vascular sistem of Seedlings.* Ann. of Bot. Vol. XIV, pp. 633-638, 1900.

— *A teory of the origin of Monocotyledons founded on the structure of their seedlings.* Ann. of Bot., Vol. XVII, pp. 1-92, 1903.

RIASSUNTO

L'A. ha studiato l'apparato floematico all'inizio del suo sviluppo nelle plantule diarche di alcune Dicotiledoni. La morfologia di questo apparato è, secondo l'A., riferibile specialmente alla teoria della torsione.

SUMMARIUM

A. inspexit apparatum cribrosum, ubi primum ortus est, in plantulis diarcis nonnullarum Dicotyledonum. Forma huius apparatus ex sententia auctoris referenda est maxime ad id quod italice dicitur " teoria della torsione ".

Pavia, R. Istituto Botanico, febbraio 1939 XVII.

R. UNIVERSITÀ DI PAVIA
ISTITUTO BOTANICO « GIOVANNI BRIOSI »
E
LABORATORIO CRITTOGAMICO ITALIANO
DIRETTI
dal Prof. GINO POLLACCI

RICERCHE SULLA GERMINAZIONE DELLE ASCOSPORE E SULLA ORIGINE DEI PERITECI DELLA SPORORMIA POLLACCII El., n. sp.

Nota del Prof. FLAVIO GIUSEPPE ELISEI
Assistente al R. Istituto Botanico

(Con 19 figure nel testo)

Uno dei funghi più interessanti raccolti dalla Missione Zavattari nell' Etiopia meridionale, nel 1937-XV, è il *Cycloschizon Pollaccii* El., n. sp., un emisferiale parassita poco dannoso delle foglie di *Catha edulis* Forsk. I *Cycloschizon* finora conosciuti sono cinque in tutto, compresa la nuova specie sopra ricordata, e di essi si ignorano completamente l'ontogenesi e i caratteri culturali. Per questo ho tentato ripetutamente di ottenere in cultura il *Cycloschizon Pollaccii* El., staccandone numerosi ascostromi dalle foglie essiccate di *Catha edulis* Forsk. e ponendoli sopra diversi terreni solidi e in terreni liquidi. Ma i risultati sono sempre stati negativi nonostante le numerose semine e nonostante il grande numero di ascospore presenti in ciascun ascostroma, e quindi mi sono dovuto convincere che il fungo aveva purtroppo perso completamente la sua vitalità.

Durante queste prove per lo più non si è sviluppata nessuna microflora di inquinazione, in pochi casi si sono sviluppati dei batteri, e in tre casi, in terreno Pollacci, si è formata una colonia fungina i cui caratteri si possono così riassumere: essa è in gran parte epibiotica, diffusa, lanosa e avellanea, poi, dopo alcuni giorni, completamente glabra e umida, dello stesso colore del substrato e si mostra pieghettata in tutti i sensi (Fig. 1). Il micelio è costituito da ife settate, lisce, cilindriche, ramificate in modo monopo-

diale e simpodiale, ialine, ialino-fuliginee, e anche avellanee o un po' isabelline, larghe 5 micron, poco tra loro anastomizzate. Il fungo

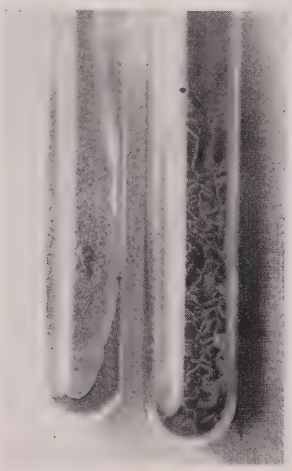


Fig. 1. — *Sporormia Pollaccii* El. — A destra colonia in terreno Pollacci, a sinistra colonia in terreno carota. Grand. nat.

resta sterile per tutta la sua vita in questo terreno. Trasportato sopra terreno carota forma rapidamente una colonia diffusa, avel-

Fig. 2. — *Sporormia Pollaccii* El. — Sezione longitudinale mediana di un peritecio, nel quale scomparse le perifisi, le parafisi e gli aschi, sono restate solo alcune ascospore. X 240.

lanea, poi alquanto grigia, lanosa, in gran parte epibiotica, senza nessuna piega (Fig. 1). Alla sua superficie compaiono numerosi

periteci fuligineo-nerastri, glabri, ostiolati, urceolati, diretti in tutti i sensi col loro ostiolo; alcuni sono anche capovolti e cioè mostrano

Fig. 3. — *Sporormia Pollaccii* El. — Due aschi con parafisi. X 460.

l'ostiolo volto verso il substrato. Quindi volendo osservare la loro sezione longitudinale mediana completa occorre eseguire un grande

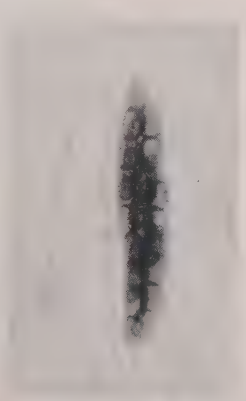


Fig. 4. — *Sporormia Pollaccii* El. — Due aschi dei quali uno senza ascospore, e l'altro con ascospore ancora piuttosto giovani. X 820.

numero di sezioni trasversali della colonia, perché solo alcune di queste mostreranno il peritecio tagliato convenientemente. I periteci

si formano tanto al buio che alla luce, ma nella presente ricerca non è stata adoperata luce unilaterale e quindi essi non sono forse eliotropicamente indifferenti; penso anzi che con una luce unilaterale si potrà ottenere una loro più uniforme orientazione, come avviene in diversi Sferiali, così nelle *Sordaria*.

Il peritecio maturo, dalla forma presso a poco di orcio (Fig. 2), ha la parete costituita da pochi strati di cellule poliedriche con membrana ispessita, fuligineo-nerastra, che non si decolora né si colora con i comuni metodi di istologia. Il suo collo è alto 40-60 micron, gradualmente più largo dal basso verso l'alto, dove può raggiungere un diametro di 100 micron. L'altezza totale del peritecio è 170-210 micron e la larghezza del corpo 125-140 micron.

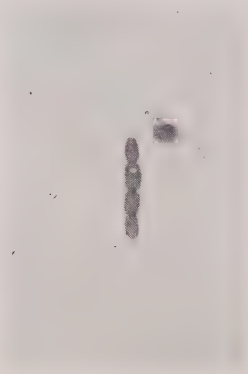


Fig. 5. — *Sporormia Pollaccii* El. — Ascospora isolata con vicino l'articolo di un'altra ascospora. X 460.

Se il suo stadio ontogenetico non è troppo avanzato, il collo mostra delle perifisi e il corpo delle parafisi, le une e le altre molto sottili, ialine, di aspetto gelatinoso e numerose. Nel corpo sono diversi aschi, relativamente grandi, ialini, la cui forma ricorda alquanto quella di una banana, senza spigoli però e con apice arrotondato; sono lunghi, compreso il pedicello, 90-100 micron e larghi verso il mezzo 10-18 micron; il pedicello è lungo 3-5 micron e largo 5 micron (Figg. 3 e 4).

Dentro ciascun asco stanno otto ascospore tetracellulari, cilindrico-fusiformi, prima fuliginee e poi castanee, lunghe per lo più 30 micron e larghe 5-6 micron. Ciascuna ascospora mostra tre membrane ben distinte l'una dall'altra, che andando dalla più esterna sono le seguenti: un perisporio liscio, ialino, tetraloculare,

non capace di dividersi nei suoi quattro articoli, dello spessore di circa mezzo micron; un esosporio liscio, prima fuligineo, poi castaneo, tetraloculare, che si divide con molta facilità nei suoi quattro articoli, ciascuno dei quali esce fuori dal loculo corrispondente del perisporio e acquista il valore fisiologico di un'ascopora isolata, contenendo dentro di sè un protoplasma rivestito dall'endosporio. Questo è liscio, ialino, sottile, ben visibile nell'articolo di ascospora germinante (Figg. 5-6-8).

Non so in che modo le quattro cellule ascosporiali riescano a uscire fuori dai quattro loculi del perisporio, dopo essersi staccate l'una dall'altra. Forse avviene un parziale dissolvimento di esso, oppure una parte di esso accompagna lo quattro cellule ascosporiali nel loro allontanamento, sull'esosporio delle quali rimanendo bene

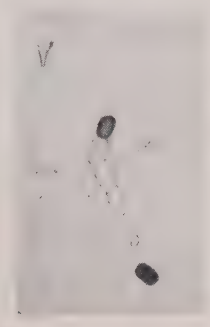


Fig. 6. — *Sporormia Pollaccii* El. — Ascospora con perisporio ialino tetraloculare del quale solo un loculo contiene ancora una cellula ascosporiale. Una cellula ascosporiale isolata è visibile nel basso della figura. X 460.

applicata ed essendo molto sottile e ialina non sarebbe riconoscibile. Quello che è sicuro è che il perisporio tetraloculare è ben riconoscibile ed anzi meglio evidente dopo che se sono allontanati i quattro articoli di ascospore (Fig. 6). Le due cellule ascosporiali mediane viste in superficie mostrano un contorno rettangolare con angoli arrotondati; le due terminali mostrano un contorno quasi conico con apice arrotondato; la lunghezza dei quattro articoli è per lo più 7,5 micron, la larghezzza 5 micron; la loro sezione trasversale è un circolo (Fig. 7).

Sulla base di questi caratteri non è difficile riconoscere nel fungo descritto un rappresentante del genere *Sporormia*, istituito nel 1849 da Giuseppe De Notaris con la specie *Sporormia fimetaria* De Not., genere della Classe Ascomiceti, dell'Ordine Sferiali, e

della Famiglia Sordariacee. Esso comprende un centinaio di specie saprofite, per lo più fimicole; alcune vivono invece sopra parti morte o anche viventi di piante, e in quest'ultimo caso partecipano a costituire la micoflora nota col nome di fumaggine. Non credo di potere identificare la *Sporormia* da me osservata con una di quelle già note; la considero quindi come una entità nuova che chiamo *Sporormia Pollaccii* El., dedicandola al Chiar.mo Prof. Pollacci G., Direttore dell'Istituto Botanico di Pavia e del Laboratorio Crittogamico Italiano.

Il genere *Sporormia* è molto interessante per lo sviluppo assai particolare del peritecio, illustrato dal Dangeard P. A. nel 1907 e

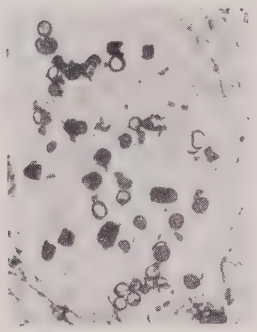


Fig. 7. — *Sporormia Pollaccii* El. — Sezione trasversale di alcuni articoli di ascospore. X 460.

poi ristudiato, senza scoperta di nuovi fatti notevoli, dal Deitsch H. nel 1926 e dall'Arnold C. A. nel 1928. Cellule rotondeggianti, sparse qua e là nel micelio e che forse rappresentano degli ascogoni, si dividono ciascuna numerose volte, nelle diverse direzioni dello spazio, e formano ciascuna una masserella rotondeggiante di vero tessuto, che diventando in modo sconosciuto cava nel suo interno, e riempiendo questa sua cavità con aschi ed eventualmente anche con parafisi, diventa un peritecio. Presso gli altri Ascomiceti invece la parete del peritecio è un falso tessuto, perché si viene gradualmente formando per l'intreccio e la saldatura di numerose ife sviluppatisi attorno all'ascogonio, chiamate filamenti di copertura.

Sulla germinazione delle cellule ascosporiali delle *Sporormia* non è stato al contrario segnalato finora niente di interessante: l'esosporio è capace di estendersi alquanto e poi sotto la pressione della cellula che esso include si rompe irregolarmente in una parte qua-

lunque della sua superficie; si forma in questo modo una fessura piuttosto stretta dalla quale esce fuori l'ifa germinale, che presto si segmenta e si ramifica. La germinazione avviene facilmente anche nell'acqua comune.

Fig. 8. — *Sporormia Pollaccii* El. — Due cellule ascosporiali (articoli di ascospora) all'inizio della germinazione. X 460.

Le cellule ascosporiali della *Sporormia Pollaccii* El. presentano invece nel germinare un tipo di deiscenza molto caratteristico dell'esosporio: questo, che è del tutto rigido e quindi incapace di

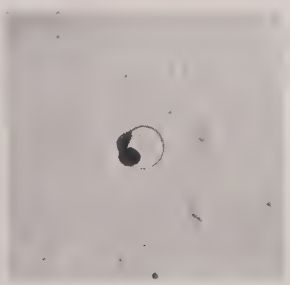


Fig. 9. — *Sporormia Pollaccii* El. — Cellula ascosporiale diventata sferica e uscita fuori dal suo esosporio, che le rimane però aderente. X 460.

aumentare la sua superficie, subito si divide in due valve assai regolari, che allontanandosi gradualmente l'una dall'altra vengono a disporsi in uno stesso piano, restando tra loro sempre unite con

un breve tratto di esosporio. La cellula ascosporiale diventa sferica, esce completamente fuori dall'esosporio e acquista un diametro di 12-15 micron. E' ialina e rivestita dall'endosporio ugualmente incoloro (Figg. 8-9).

Fig. 10. — *Sporormia Pollaccii* El. — Inizio del micelio, primo stadio. X 460.

L'esosporio diviso nelle due valve resta aderente alla superficie della cellula ascosporiale per tutta la vita di questa e anche oltre come vedremo in seguito. Ad un polo di questa cellula dopo

Fig. 11. — *Sporormia Pollaccii* El. — Inizio del micelio, secondo stadio. X 460.

poco tempo compare una gemma, che è l'inizio di una ifa ialina, a superficie liscia, che poi si allunga, si segmenta e si ramifica.

Poi un' altra gemma compare al polo opposto, o anche in un altro punto, e questa gemma si comporta come la prima (Figg. 10-11-12).

Si forma così attorno alla cellula ascosporiale un micelio con ife da prima ialine, poi leggermente fuliginee, lisce, pluricellulari, larghe 5 micron, ed è interessante notare che in mezzo a tante cellule ormai presenti, la cellula ascosporiale, la più vecchia di tutte, resti sempre facilmente riconoscibile, perché ad essa rimane aderente l'esosporio bivalve di colore castaneo (Fig. 13).

E' quindi naturale che io abbia cercato di vedere quale fosse il destino di questa cellula, e ho avuto la sorpresa di osservare anche in essa quei fatti che il Dangeard e gli altri due AA. citati

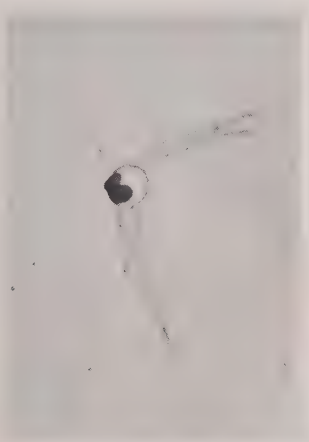


Fig. 12. — *Sporormia Pollaccii* El. — Inizio del micelio, terzo stadio. X 460.

avevano notato in cellule qualunque rotondeggianti sparse qua e là nel micelio, da me pure riscontrate. La cellula ascosporiale, dopo essere uscita fuori dal suo esosporio e dopo avere prodotto un micelio, si divide nelle diverse direzioni dello spazio e forma un nodulo di parenchima (sulla cui superficie per un certo tempo è riconoscibile l'esosporio), il quale ingrandendosi e da ialino diventando fuligineo si trasforma gradualmente in un peritecio (Figg. 15-16-17-18-19).

È questa la prima volta che viene descritta una cellula ascosporiale capace essa stessa di trasformarsi in un peritecio, ma se si tiene conto del modo molto particolare col quale si formano i periteci nel genere *Sporormia*, la cosa non deve poi sorprendere

molto. Dopo questo reperto forse è meglio pensare che le cellule rotondeggianti, sparse qua e là nel micelio e capaci di diventare

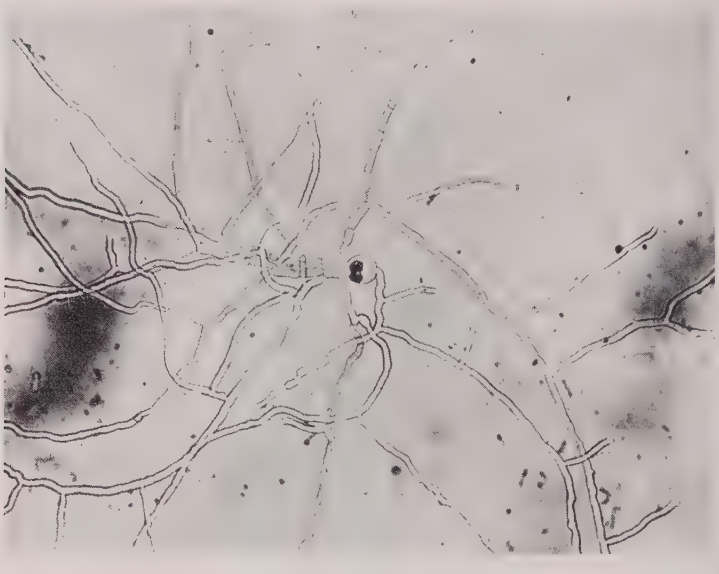


Fig. 13. — *Sporormia Pollaccii* El. — Giovane micelio già sviluppato e in mezzo la cellula ascosporiale che lo ha originato, sulla quale è sempre evidente l'esosporio castaneo, aperto in due valve. X 240.

periteci, non siano ascogoni, ma che questi, come gli anteridi, siano scomparsi, oppure, che gli ascogoni e gli anteridi siano ancora presenti, ma che si formino dentro l'abbozzo del peritecio.

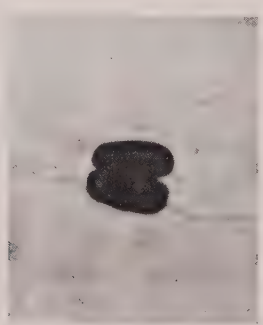


Fig. 14. — *Sporormia Pollaccii* El. — Esosporio ascosporiale aperto, più ingrandito. X 1120.

Ritornando alla deiscenza particolare dell'esosporio ascosporiale di *Sporormia Pollaccii* El., mi sembra che questa non sia stata riscontrata finora presso nessun altro Ascomicete. In alcuni Asco-

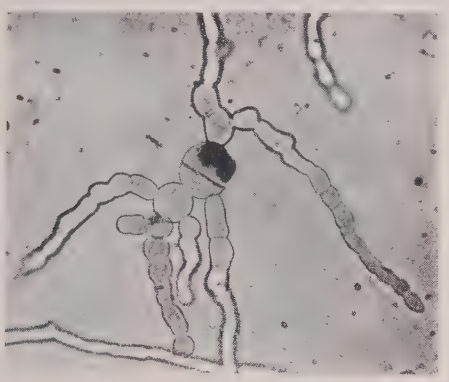


Fig. 15. — *Sporormia Pollaccii* El. — Inizio della segmentazione della cellula ascosporiale. X 460.

miceti appartenenti ai generi *Aspergillus*, *Sterigmatocystis*, *Penicillium*, *Emericella*, *Cephalotheca*, *Onygena* (Plectascali), *Roesleria* (Pezizali), *Polystigma* (Ipocreali), è stato osservato un esosporio costituito

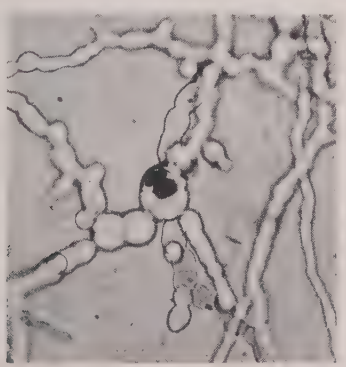


Fig. 16. — *Sporormia Pollaccii* El. — Secondo stadio di segmentazione della cellula ascosporiale. X 460.

da due valve, collegate tra loro da un anello di membrana sottile. Queste due valve differiscono però da quelle della *Sporormia Pollaccii* El., sia perché sono riconoscibili anche prima della germi-

nazione, sia perché durante questa si staccano per lo più l'una dall'altra, mentre nel caso da me illustrato le due valve sempre restano tra loro unite per un breve tratto di esosporio, lungo il

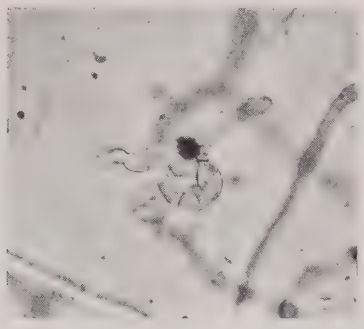


Fig. 17. — *Sporormia Pollaccii* El. — Terzo stadio di segmentazione della cellula ascosporiale. X 460.

quale il margine di ciascuna valva ben delimitato altrove si interrompe; e così lungo questo tratto manca un confine netto tra le due valve.

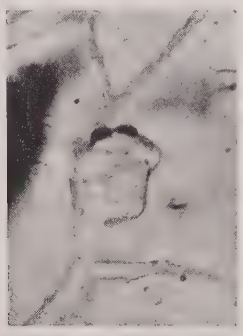


Fig. 18. — *Sporormia Pollaccii* El. — Quarto stadio di segmentazione della cellula ascosporiale. È ancora visibile in alto l'esosporio. X 460.

Per fare queste osservazioni ho adoperato culture in goccia pendente di acqua pepto-glucosata, nella quale le cellule ascosporiali germinano molto facilmente, mentre germinano con difficoltà, almeno quando sono fuori del peritecio, qualunque sia la temperatura e la stagione, nell'acqua comune o in quella distillata.

La goccia pendente di acqua pepto-glucosata non rappresenta tuttavia un buon substrato nutritivo del fungo, del quale parte delle cellule ascosporiali seminate e delle ife da esse prodotte vi degenera precocemente. Per osservare come si formano i periteci da cellule non ascosporiali e cioè da cellule qualunque del micelio, è

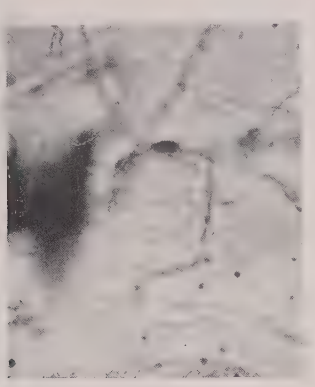


Fig. 19. — *Sporormia Pollaccii* El. — Quinto stadio di segmentazione della cellula ascosporiale. È ancora visibile in alto una valva dell'esosporio. Il peritecio è ormai già completamente abbozzato.

più comodo adoperare gocce pendenti di acqua comune, in ciascuna delle quali siano stati posti uno o più periteci con una piccolissima quantità di terreno carota. Si ottengono in questo modo miceli assai regolari, sui quali compaiono presto gli abbozzi dei periteci.

Per il fungo descritto propongo la seguente diagnosi latina:

Sporormia Pollaccii El. — Peritheciis superficialibus, sparsis, fuligineo-nigris, ostiolatis, urceolatis, glabris, laevibus, principio periphysatis, paraphysatis, 170-210 × 125-140; ascis hyalinis, similibus Musae fructibus, sed rotundato apice et sine angulis, 90-100 × 10-18 micron, stipite abrupto 3-5 × 5 micron, octosporis, paraphysibus gelatinoso-conglutinatis intermixtis, dein evanescentibus; ascosporis laevibus, castaneis, cylindraceo-subfusiformibus, obtusis, rectis vel curvulis, 30 × 5 micron, tetrameris, perisporio tetraloculari hyalino tenui obductis; loculis facile secedentibus, 7,5 micron longis, duobus mediis cylindraceis, duobus extimis subconoideis.

Substratu naturali ignoto, casu in Agar Pollacci orto, in Horto Botanico Ticinensi, in Italia septentrionali, 1937-XV.

RIASSUNTO

L'A. ha osservato nelle ascospore germinanti di *Sporormia Pollaccii* El. una particolare deiscenza valvare dell'esosporio, e descrive cellule ascosporiali capaci di segmentarsi e di trasformarsi in questo modo gradualmente in periteci.

SUMMARIUM

A. notavit in ascosporis germinantibus *Sporormiae Pollaccii* El. singularem deiscentiam in valvas exosporii, et describit cellulas ascosporiales quae se per segmenta dividunt atque ita mutantur in perithecia.

Pavia, R. Istituto Botanico, marzo 1939-XVII.

BIBLIOGRAFIA

1) Arnold C. A. — *The development of the perithecium and spermagonium of Sporormia leporina Niessl.* American Journ. Bot., Vol. 15, pp. 241-244, 1928.
2) Dangeard P. A. — *Recherches sur le développement du périthèce.* Le Botaniste, s. 10, pp. 333-352, 1907.
3) Delitsch H. — *Zür Entwicklungsgeschichte der coprophilen Ascomyceten Lasiobolus pulcherrimus Cr., Humaria anceps Rehm var. aurantiaca n. v. und Sporormia leporina* Niessl. Inaug. Diss. Leipzig, 1926.
4) De Notaris G. — *Micromycetes italici.* Mem. Acc. Sc. Torino, s. 2, t. 10, pp. 333-350, 1849.
5. Gäumann E. A. (Dodge C. W.). — *Comparative morphology of fungi.* Mc Graw-Hill Book Company, New York, London, 1928.
6) Gwynne-Vaugham H. C. I. e Barnes B. — *The structure and development of the fungi.* The Univ. Press, Cambridge, 1927.
7) Ingold C. T. — *Spore discharge in Podospora curvula De Bary.* Ann. of Bot., Vol. 42, pp. 567-570, 1928.
8) Pirotta R. — *Saggio di una monografia del genere Sporormia.* Nuovo Giorn. Bot. Italiano, Vol. 10, N. 2, pp. 127-163, 1878.
9) Schweizer G. — *Kulturmethode für coprophile Ascomyceten.* Planta, 7, pp. 118-123, 1929.
10) Tengwall T. A. — *Untersuchungen über Russtaupilze.* Meded. Phytopath. Lab. W. C. Scholten, Bd. 6, 1924.
11) Vuillemin P. — *Les Champignons.* Ed. Doin, Paris, 1912.

R. UNIVERSITÀ DI PAVIA

ISTITUTO BOTANICO "GIOVANNI BRIOSI"
E
R. LABORATORIO CRITTOGAMICO ITALIANO
diretti dal
Prof. G. POLLACCI

ISTITUTO DI FISICA
A. VOLTA
diretto dalla
Prof. R. BRUNETTI

SPETTRO D'ASSORBIMENTO DELLA CLOROFILLA TRATTATA CON SOLFATO DI RAME

Dott. LUIGI GIULOTTO

Il metodo proposto dal prof. Pollacci per la conservazione degli organi vegetali verdi consiste, come è noto, nell'immergere questi in una soluzione di solfato di rame all'1 o 2% per 24 o 48 ore, e quindi in una soluzione acquosa satura di anidride solforosa (1) (2). I pezzi si conservano così per moltissimi anni. Il trattamento con solfato di rame prima dell'immersione in acido solforoso viene fatto allo scopo di conservare il color verde ai vegetali, che altrimenti verrebbero immediatamente decolorati dall'SO_2. Essendo desiderio del prof. Pollacci di chiarire come agisca il solfato di rame per quanto riguarda la conservazione del color verde, abbiamo proposto, per risolvere il problema, il metodo spettroscopico.

Abbiamo perciò confrontato gli spettri d'assorbimento degli estratti in etilalcool di foglie fresche di « Spinacia oleracea », di foglie trattate per 48 ore con soluzione di $CuSO_4$ al 2% (*), di foglie conservate col metodo Pollacci (cioè immerse in soluzione acquosa di SO_2 dopo il trattamento con $CuSO_4$), e infine di foglie che hanno subito un più lungo trattamento con $CuSO_4$ al 2% (15 giorni).

Per ogni soluzione sono state determinate le posizioni dei massimi di assorbimento delle singole bande nel visibile, sia spettroscopicamente, sia spettrograficamente. Gli spettri sono stati ottenuti su lastre Cromeica Cappelli con uno spettrografo Hilger modello piccolo, usando come sorgente una lampada ad incandescenza e come

(*) È da escludere la presenza di $CuSO_4$ nell'estratto alcoolico essendo questo sale praticamente insolubile nell'alcool etilico assoluto.

spettro di riferimento lo spettro di un arco ad amalgama di cadmio e la riga rossa del litio. Ogni soluzione è stata esaminata in due diversi spessori allo scopo di ottenere un conveniente contrasto per la banda rossa più intensa e per le altre bande. Gli spettri sono stati poi analizzati con un microfotometro di Moll tipo A.

Nella tabella seguente sono riassunti i risultati otteuuti, limitatamente alle bande per le quali la posizione nello spettro è determinabile con maggior precisione.

Posizione dei massimi di assorbimento

Estratto alcoolico di foglie fresche:

$m\mu$ 667.5 ± 0.5 607 ± 1 538 ± 1

Estratto alcoolico di foglie in $CuSO_4$ al 2% da 48 ore:

$m\mu$ 655 ± 0.5 603 ± 3 544 ± 3

Estratto alcoolico di foglie conservate col metodo Pollacci:

$m\mu$ 654 ± 0.5 603 ± 3 543 ± 3

Estrato alcoolico di foglie di $CuSO_4$ al 2% da 15 giorni:

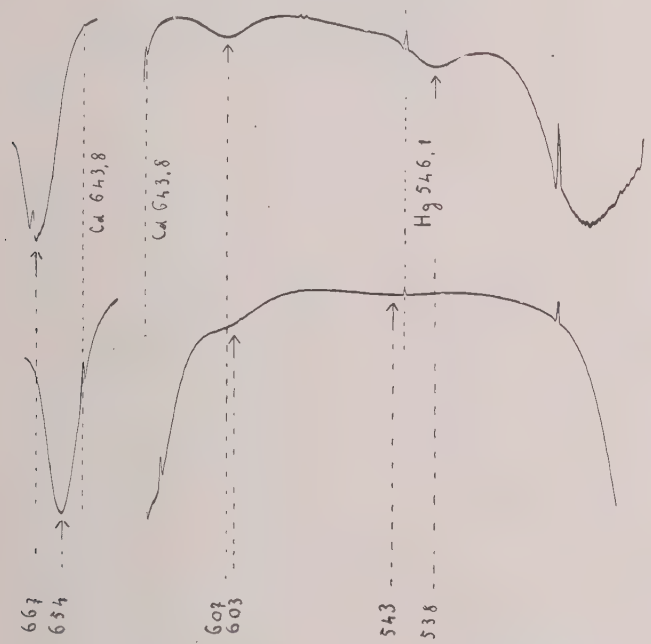
$m\mu$ 651.5 ± 0.5 602 ± 3 544 ± 3

In seguito al trattamento con solfato di rame si nota uno spostamento della banda rossa più intensa (che nella clorofilla naturale si trova a 667 $m\mu$), verso le minori lunghezze d'onda; essa si sovrappone in parte alla seconda banda rossa, la cui posizione appare quindi alquanto incerta. In luogo della banda a 538 $m\mu$ compare una banda estesa e poco intensa intorno a 544 $m\mu$. Si può dunque concludere che in presenza di $CuSO_4$ si forma un derivato della clorofilla che presenta grande stabilità e non viene quindi alterato dall'acido solforoso. Dal confronto delle posizioni della prima banda rossa nelle diverse soluzioni si può dedurre che la trasformazione dopo 48 ore di immersione in $CuSO_4$ al 2% è quasi completa. È stato pure notato che procedendo l'azione del $CuSO_4$ la fluorescenza rossa che nella clorofilla naturale è assai intensa, va man mano diminuendo di intensità fino a scomparire completamente.

Con ogni probabilità il composto in questione deriva dalla clorofilla per sostituzione del magnesio che si trova al centro della molecola col rame. Alcuni composti della clorofilla col rame e con altri metalli sono stati preparati e studiati da Willstätter e Sjöberg (3), da Kunz, Morneweg e Müller (4) e da altri.

Uno dei metodi di preparazione consiste essenzialmente nello aggiungere a una soluzione di feofitina in acido acetico una soluzione acquosa concentrata di acetato del metallo che si vuole introdurre. Si ottiene così il composto sotto forma di precipitato.

Per quanto riguarda il rame però abbiamo visto che la sostituzione avviene anche direttamente ponendo la clorofilla in presenza di un sale cuprico. Abbiamo voluto vedere se un'analoga sostituzione ha luogo trattando le foglie con sali di altri metalli. Sono



Spettri d'assorbimento analizzati col microfotometro
Sopra: estratto alcoolico di foglie fresche
Sotto: estratto alcoolico di foglie conservate col metodo Pollacci
Le lunghezze d'onda si corrispondono verticalmente

stati esperimentati i seguenti sali: $ZnSO_4$, $ZuCl_2$, $FeSO_4$, $NiSO_4$, $NiCl_2$, $CoSO_4$, UO_2SO_4 a diverse concentrazioni, prolungando l'immersione per alcuni giorni. L'esame spettroscopico degli estratti alcoolici ha rivelato un'alterazione della clorofilla analoga a quella che ha luogo in presenza di sali di rame solo con una soluzione concentrata di $ZnCl_2$. Anche in questo caso si nota uno sposta-

mento della banda rossa più intensa verso le minori lunghezze d'onda. Il trattamento con sali di zinco non ha però interesse dal punto di vista della conservazione dei vegetali con acido solforoso, perchè il composto che la clorofilla forma con lo Zn si decolora in presenza di SO_2.

RIASSUNTO

L'esame spettroscopico dell'estratto alcoolico di foglie trattate con soluzione acquosa di solfato di rame ha messo in evidenza la formazione di un derivato della clorofilla. L'esame spettroscopico ha pure dimostrato che questo derivato non viene sensibilmente alterato se le foglie trattate con $CuSO_4$ vengono conservate in una soluzione acquosa di SO_2 secondo il método Pollacci.

SUMMARIUM

Sucus vi alcoli expressus e foliis, $CuSO_4$ in aqua soluto antea demersis, spectroscopii ope inspectus quiddam e clorophylla genitum manifeste ostendit. Quae eadem inspectio manifestum quoque fecit hoc e clorophylla genitum non admodum mutari, si folia prius $CuSo_4$ in aqua soluto demersa, deinde SO_2 in aqua soluto, ex ratione modoque a Pollacci adhibitis, serventur.

BIBLIOGRAFIA

(1) G. Pollacci, Atti Ist. Bot. R. Un. di Pavia, II serie, 6, 1900.
(2) G. Pollacci, Boll. Soc. Bot. It., 1905.
(3) R. Wilmstætter u. K. Sjöberg, ZS f. Phisiol. Chemie, 138, 1924, 171.
(4) K. Kunz, W. Morneweg u. H. Müller, ibid 199, 1931, 93.

R. UNIVERSITÀ DI PAVIA
ISTITUTO BOTANICO « GIOVANNI BRIOSI »
E
LABORATORIO CRITTOGAMICO ITALIANO
DIRETTI
dal Prof. **GINO POLLACCI**

NUOVI CASI DI TRACHEOVERTICILLIOSI SU *DIGITALIS LANATA* E *SANTOLINA CHAMAECYPARISSUS*

Dott. FAUSTO LONA

Introduzione e scopo di lavoro

Ho avuto l'occasione, due anni fà, di studiare un caso di tracheomicosi da « Verticillium » da me riscontrato nella *Digitalis lanata* nelle coltivazioni sperimentali (6) del R. Orto Botanico di Pavia.

La stessa malattia ho potuto osservare in piante di *Santolina Chamaecyparissus* e in una pianta di rosa. Anche da una pianta malata di albicocco ho isolato un « Verticillium ».

I due primi casi sono importanti perchè portano alla conoscenza di due nuovi ospiti (*Digitalis l.* e *Santolina C.*) di questo parassita.

Il caso della Digitalis è stato oggetto di uno studio sperimentale essendo riuscito a riprodurre la malattia in piante sane con le due varietà di « Verticillium » tracheicolo isolate da piante infette.

Data l'importanza della malattia e polifagìa dell'agente patogeno ho creduto opportuno notificare le mie osservazioni col presente lavoro. Lo studio mi è stato affidato dal Prof. Pollacci Direttore del R. Istituto Botanico e Laboratorio Crittogamico, che vivamente ringrazio.

Isolamenti da Santolina, Rosa e Albicocco

La *Santolina Chamaecyparissus* fu inviata verso la fine di giugno del 1937 al R. Laboratorio Crittogamico dall'Ispettore dei giardini del comune di La Spezia.

Nelle piantagioni di Santolina a La Spezia, come mi è stato riferito, nella stagione estiva, si producono delle perdite rilevanti

di esemplari in seguito a deperimento. Fra i primi segni della malattia e la morte delle piante trascorrono pochissimi giorni e molte volte poche ore. Esaminando la pianta sofferente o morta nella parte epigea, si nota solo il prosciugamento dei tessuti, i quali, del resto, appaiono ancora intatti senza alcuna traccia di disfacimento.

Nei diversi esemplari pervenuti si notava nella chioma una certa diversità dello stato di disseccamento delle varie parti. Le radici non mostravano segni evidenti esteriormente, ma sezionandole trasversalmente ci si accorgeva della presenza di un leggero

Fig. 1 — Piante sane di *Digitalis lanata*.

annerimento più o meno esteso nella parte legnosa. I rami, nella parte legnosa, presentavano anch'essi, in grado differente uno dall'altro, questa colorazione limitata ad una zona più o meno vasta.

Sezioni di radici scortecciate prelevate asetticamente e messe su terreno Pollacci in tubi, si ricoprivano dopo uno o due giorni di permanenza in termostato, di un micelio diffuso bianco che dopo alcuni giorni di sviluppo si rivelava al microscopio per un « Verticillium ».

La Santolina, a mia conoscenza, non è mai stata citata come ospite di questo fungo.

La Rosa, della varietà Druscki Rosa, fu trovata nel giardino del Prof. Maffei in Pavia. La malattia era stata osservata anche anni addietro e si manifestava sempre col disseccamento lento e progressivo dei rami. Dal legno di rametti apicali quasi disseccati di un esemplare colpito ho isolato un « Verticillium ».

L'Albicocco colpito dalla malattia verso la fine di maggio, proveniva da un giardino di Pavia (prop. Dott. Oppizzi). Dal legno malato di questa pianta ho isolato un « Verticillium ».

Tracheoverticilliosi della *Digitalis lanata*

Verso i primi di maggio del '937 nel R. Orto Botanico di Pavia trovai delle piante di *Digitalis lanata* affette in grande quantità da un avvizzimento di origine parassitaria che, dopo opportune ricerche sperimentali, ho potuto identificare per una tracheoverticilliosi.

Caratteri della malattia

La malattia si manifestò in *una* delle aiuole coltivate a *Digitalis lanata*. Le piante colpite, piuttosto giovani, di 20-40 cm. di

Fig. 2 — Piante ammalate di *Digitalis lanata*.

altezza, erano raggruppate in due tre o punti dell'aiuola, dove si distingueva, attorno a una o più piante palesemente malate, altri individui che presentavano i sintomi incipienti della malattia. L'attacco si manifestava con un leggero appassimento di tutte le foglie che in seguito si accentuava così che le foglie finivano col pendere lungo il fusto, dando alla pianta un aspetto languescente come si trattasse di carenza d'acqua. Così fra le piante colpite e quelle sane si stabiliva un contrasto molto evidente (fig. 1, 2 e 3).

All'avvizzimento, che progrediva lentamente, subentrava in seguito, circa 20 giorni dopo, il disseccamento di tutta la pianta che aveva inizio dalle foglie più basse.

Nessun altro segno particolare si riscontrava esteriormente nella parte epigea delle piante colpite e neppure il sistema radicale lasciava scorgere superficialmente qualche segno evidente di malattia.

La malattia fu osservata, verso la metà di giugno anche in una altra aiuola della *Digitalis lanata* nello stesso Orto Botanico. ma situata in un appezzamento diverso.

Le piante di questa seconda aiuola, per diversità di condizioni, differivano un pò da quelle di prima. Erano cioè meno succulenti,

Fig. 3 — Esemplare sano e esemplare gravemente colpito dalla malattia.

più esili e legnose con midollo molto sviluppato e foglie più piccole e strette e portavano ormai le infiorescenze.

La malattia in queste piante presentava caratteri diversi da quelli osservati per le piante della prima aiuola. Le foglie delle piante attaccate in questo secondo caso assumevano durante l'avvizzimento un colore più chiaro del normale a volte quasi giallo pallido e il disseccamento della parte epigea subentrava presto e si propagava a tutta la pianta più rapidamente che nel primo caso, cominciando sempre dal basso.

Rilievi anatomo-patologici

Nelle sezioni del fusto di piante avvizzite tutta la zona dello xilema, appariva colorata in bruno più o meno intenso o in bruno verdastro (fig. 4). Tale zona necrosata del fusto risultava a piccolo ingrandimento come un anello oscuro attorno al midollo, ed era meno evidente nelle piante della seconda aiuola.

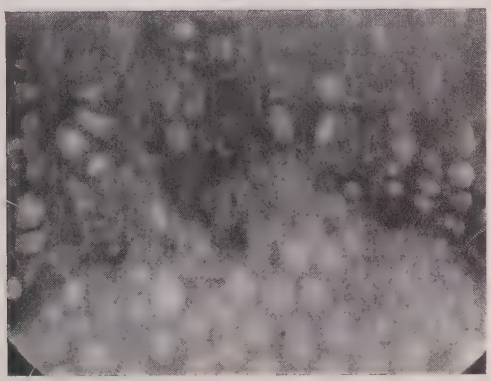


Fig. 4 — Sezione trasversale di tusto di *Digitalis l.* infetta (zona legnosa necrosata).

All'esame microscopico i vasi legnosi più interni e più grossi, erano qua e là del tutto ostruiti da una massa giallo-bruna probabilmente costituita da sostanze gommose, mentre nel lume di altri

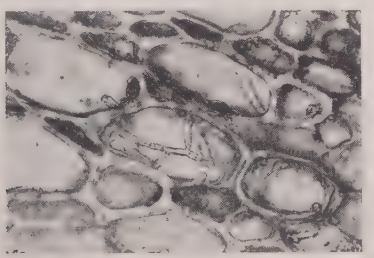


Fig. 5 — Ife del parassita nel lume di un vaso legnoso.

vasi si riscontravano ife fungine sterili (fig. 5), ialine e settate, più o meno abbondanti, a volte ristrette a pochi vasi. Quest'ultimo caso si verificava specialmente nelle piante prelevate dalla seconda aiuola cioè quelle colpite dalla malattia a decorso più rapido.

Per meglio mettere in evidenza il fungo nei vasi, in qualche

caso, mi sono servito del bleu-coton all'acido lattico che colora le ife marcatamente.

Anche i vasi legnosi della nervatura principale delle foglie, entro certi limiti, presentavano le particolarità ora descritte per quelli del fusto, essendo pure essi invasi da ife fungine.

Sezioni trasversali di radici delle stesse piante malate, indistintamente, mostravano la zona del legno molto necrosata e quasi completamente annerita. All' esame microscopico si vedevano parecchi vasi completamente ostruiti da masse opache brune o giallo-brune e altri invasi da ife sterili ialine settate più o meno intrecciate.

Sia nel fusto sia nelle radici indistintamente in tutte le piante era facile vedere che, esclusa la zona del legno, tutti gli altri tessuti erano perfettamente sani finchè la malattia non era in stadio molto avvanzato; in questo ultimo caso le radici potevano mostrare delle anormalità anche superficialmente e andar soggette a marciumi.

Isolamento dell'agente patogeno

Dal fusto e dalle radici delle piante avvizzite, previa disinfezione asterna con sublimato corrosivo all' 1 $^{0}/_{00}$, prelevai asetticamente delle sezioni intere che posi in tubi con agar-carota (pH = 7).

Dopo circa un giorno di permanenza in termostato si erano sviluppati sulla matrice dei ciuffetti di ife bianche che avevano origine dalla zona necrosata del legno. Quindi si formava una colonia cotonosa bianca e diffusa con ife aeree sviluppate specialmente nella parte secca dell'agar dove avevo posto le sezioni di piante infette.

All'esame microscopico il micelio aereo risultava formato da ife sterili ialine e settate da cui partivano ife fruttifere ialine portanti un capolino di spore. Qua e là però si potevano individuare conidiofori muniti di ramuli qualche volta riuniti in caratteristici verticilli.

Studio colturale del parassita

Se da principio le colonie delle varie provette avevano un aspetto pressochè uguale, dopo pochi giorni mi accorsi di notevoli differenze presentate dalle colture. In alcune provette difatti la colonia si estendeva rapidamente fino a coprire tutta la superficie dell'agar e in seguito si trasformava in una patina compatta, bollosa, di un colore più chiaro di quello del substrato, mentre il micelio aereo veniva riassorbito eccetto che nella parte secca. In questa parte, in corrispondenza del punto di semina, si osservava una pic-

cola zona di agar annerito ben manifesta guardando il retro della coltura. Potei assicurarmi coll'esame microscopico che tale annerimento era dovuto alla presenza di microsclerozi immersi nell'agar.

In altre provette il micelio cresceva più lentamente e dopo pochi giorni in seno all'agar e sotto il micelio aereo aveva luogo la formazione di una evidentissima massa nera iniziatasi nella parte secca dell'agar e estendentesi in seguito su tutta la superficie mentre il micelio veniva riassorbito quasi completamente. Questa massa nera, che al microscopio risultava costituita da numerosi microsclerozi olivaceo-neri, veniva quindi a formare, dopo parecchi giorni, una crosta continua su tutta la superficie del substrato. A sua volta dallo strato di microsclerozi avevano origine in seguito qua e là delle coloniette di micelio bianco cotonoso ben sviluppato.

I due aspetti erano spesso riuniti nelle colture, come risultava evidente da qualche provetta, ma ora l'uno ora l'altro aveva la prevalenza nel diffondersi nel mezzo di coltura.

Da queste colture iniziali ho isolato con successivi trapianti su terreno-Pollacci e su agar-fagioli due tipi di colonie che mantenevano costantemente le loro caratteristiche essenziali indipendentemente dal tipo di terreno su cui venivano coltivate.

Provvisoriamente il primo lo chiamo *ceppo a*; il secondo *ceppo b* e passo alla descrizione delle colonie da essi originate dopo venti giorni di crescita in colture parallele tanto su terreno-Pollacci che su agar-fagioli.

La colonia del *ceppo a*, in tubi con terreno Pollacci, è estesa a tutta o quasi tutta la superficie del substrato come una patina aderente al mezzo, ondulata in senso radiale vicino al punto di semina, bollosa a rigonfiamenti nel resto della superficie, con una colorazione un pò più chiara di quella del substrato. Le ife aeree sono scarse e limitate alla parte secca del terreno e un pò ai bordi. Non si osservano affatto formazioni sclerozíali.

La colonia dello stesso *ceppo a*, in tubi con agar-fagioli, si estende per circa due terzi sulla superficie dell'agar con ife bianche aeree presenti su quasi tutta la colonia con maggiore sviluppo sulla parte secca dell'agar in corrispondenza del punto di semina. Più o meno evidente è la loro disposizione in zone concentriche che molte volte tuttavia non si osserva affatto. Il complesso di tali ife aeree, che appaiono piuttosto corte e rasate, dà alle colonie un aspetto quasi pruinoso. Guardate al microscopio esse appaiono costituite da un insieme di ife fruttifere molto abbondanti, variamente disposte, semplici o composte con ramuli talvolta riuniti in verticilli e portanti capolini sferici di spore a volte deformati per la mancanza di un definito involucro liquido. Nelle immediate vicinanze del punto

di semina si osserva poi un oscuramento del substrato che non dipende dalla presenza di formazioni sclerozíali.

La colonia del *ceppo b*, in tubi con terreno Pollacci, è poco estesa occupando solo un terzo della superficie del terreno ed è costituita da una crosta nera che al microscopio si rivela costituita da numerosi microsclerozi (fig. 6) olivaceo-neri, molto evidenti osservando il retro della coltura. Da questo strato nero sorgono masse di micelio aereo bianco cotonoso, se folto, di aspetto bianco grigio se rado per la presenza dello strato nero sottostante, micelio che si estende per breve tratto con ife piuttosto rade anche oltre i limiti della crosta sclerozíale agli estremi della colonia. In qualche punto il micelio è riassorbito dalla massa sclerozíale che aumenta in volume. Veduto al microscopio questo micelio aereo si presenta costituito in special

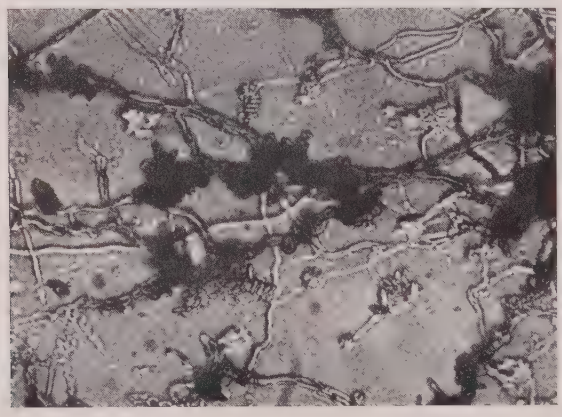


Fig. 6 — Formazioni sclerozíali del parassita (ceppo b)

modo da ife fertili abbastanza abbondanti ma in minor grado che nel *ceppo a*, semplice o con ramuli riuniti spesso in caratteristici verticilli e portanti capolini sferici di spore.

La colonia del *ceppo b*, in tubi con agar-fagioli, non mostra sostanziali differenze da quella crescente su terreno Pollacci. Soltanto qui non si nota ancora riassorbimento di micelio da parte della massa sclerozíale.

Passo ora a descrivere le *colonie giganti* del *ceppo a* e del *ceppo b* coltivati su agar-fagioli in scatole Petri, dopo 20 giorni di sviluppo in termostato.

La colonia del *ceppo a* (fig. 7) subcircolare di circa 5 cm. di diametro è formata da una parte centrale, di un centimetro circa di diametro con ife aeree erette abbastanza sviluppate di color bianco con

riflessi rosei dovuti al substrato, e da una zona più esterna di un centimetro di larghezza, con ife aeree erette meno fitte, rasate e disposte in 5 anelli concentrici sempre meno evidenti procedendo verso l'esterno, dove la colonia è contornata da un alone poco appariscente di ife prevalentemente striscianti. I passaggi fra queste tre zone sono graduali. Nella parte centrale della colonia guardando il retro della coltura, l'agar appare un pò colorato in bruno scuro, fatto che non dipende da presenza di sclerozi, che non si riscontrano affatto nella colonia.

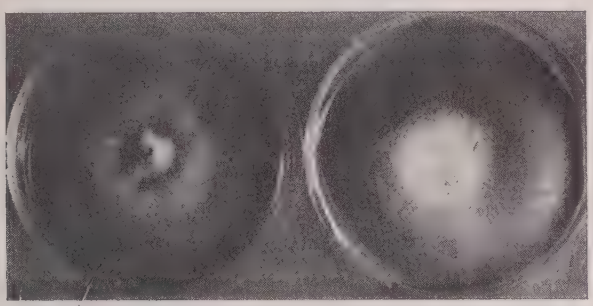


Fig. 7 — Colonie giganti (a sinistra *ceppo b*; a destra *ceppo a*)

La colonia del *ceppo b* (fig. 7), circolare, misura circa cm. 2,5 di diametro, ma è molto più appariscente di quella del *ceppo a* per la presenza degli sclerozi e di ife aeree ben svilupppate. Nel centro si osserva un bottone emisferico di circa 6 mm. di diametro costituito da un ammasso di sclerozi sormontato da ife a tappeto dall'aspetto bianco grigio. Nel resto della colonia appaiono ife aeree bianco-grige di aspetto lanoso, meno fitte attorno al bottone centrale, sorgenti tutte da uno strato nero costituito da un insieme di numerosi microsclerozi olivaceo-neri che verso l'esterno si fanno più radi apparendo come puntini neri che tendono a disporsi in anelli concentrici. Nella parte più esterna della colonia le ife, rade e prevalentemente striscianti, formano un piccolo alone.

Morfologia

Le ife sterili del *ceppo a*, ialine nella parte giovane e lievemente offuscate nella parte più vecchia, sono frequentemente settate e misurano 2-3,2 μ di larghezza. Da esse si dipartono numerose ife fertili di varie dimensioni, al momento dell'esame non ancora ben differenziate. A tale proposito noto che anche Curzi (2) ha osservato che il *Verticillium* isolato da Peperone, descritto come *V. trachei-*

philum, nelle prime colture non era ben differenziato nei conidiofori (con rari verticilli) e mostrava perciò un'aspetto diverso dal normale. Nel nostro caso le colture sono costituite in gran maggioranza da codiofori brevi solitari con un capolino sferico di spore all'apice oppure portanti anche uno o due ramuli non riuniti in verticillo o infine provvisti di un solo verticillo costituito da due o tre ramuli portanti capolini sferici di spore e meno spesso conidi solitari (fig. 8). Vi sono poi conidiofori più grandi, non ben differenziati, con verticilli e ramuli solitarii che talvolta portano ramuli secondari riuniti a loro volta in verticilli e sempre muniti di capolini di spore. I conidiofori (fig. 9) più piccoli misurano 70-140 μ mentre i più grandi

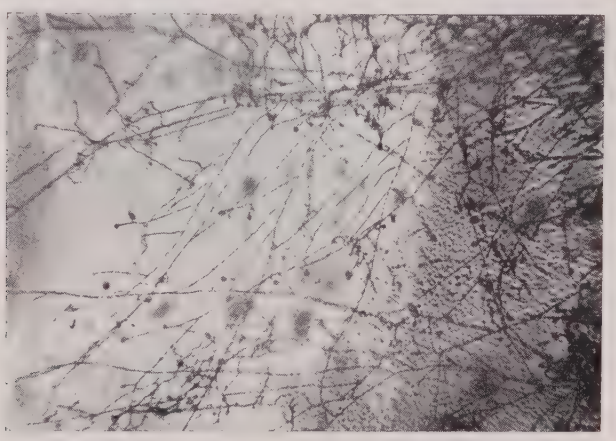


Fig. 8 — Micelio con ife fertili del ceppo a.

arrivano a 190 μ. Sono tutti ialini, settati ed esili, misurano circa 2 μ di larghezza. Nei conidiofori piccoli con un solo ramulo la distanza fra questo e l'apice del conidioforo può arrivare fino a 70 μ. Negli altri il primo verticillo dista dall'apice 27-38 μ. I ramuli misurano 21-30 μ e sono un pò rigonfi alla base e assottigliati all'estremità e portano capolini sferici o deformati per mancanza di un involucro liquido ben definito nel qual caso le spore si riuniscono anche intorno al ramulo in masse abbondanti. I capolini sferici misurano 8-12,5 μ. I conidi ialini assumono forma e dimensione diversa; ve ne sono cioè di ellissoidali o quasi ovali piuttosto piccoli e altri ellissoidali allungati, più grandi, qualche volta divisi da un setto. In complesso essi misurano 2,5-3,8 $\times$ 5,1-7,7 μ.

Nel *ceppo b* le ife fertili dopo alcuni passaggi in coltura si differenziano bene e presentano presto le caratteristiche generiche. I conidiofori (fig. 10), settati, piccoli sono frequenti e i conidiofori più

grandi sono meno abbondanti. I conidiofori piccoli di 60-80 micron di lunghezza per circa 2 micron di larghezza possono essere semplici, con un capolino di spore all'estremità, o avere dei ramuli che

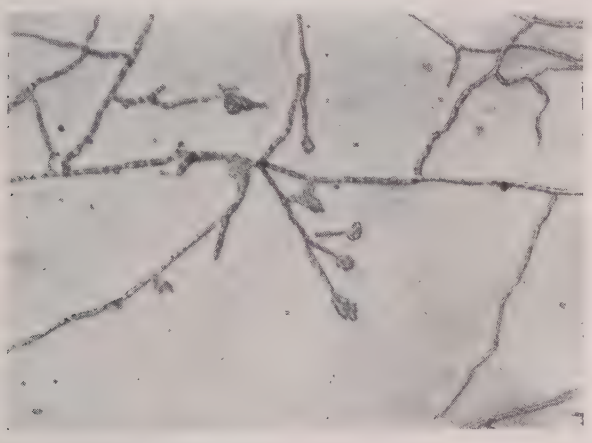


Fig. 9 — Conidioforo (ceppo a).

spesso sono riuniti in un verticillo in numero di 2-3 o 4. I conidiofori più grandi portano frequentemente più verticilli, di solito

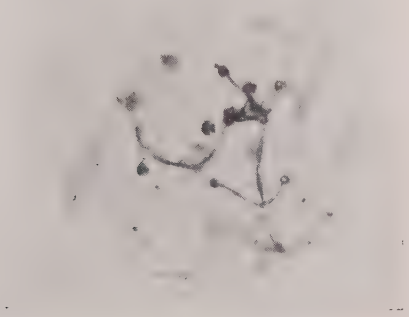


Fig. 10 — Conidiofori (ceppo b)

2-3. Il primo inserito a 35-45 micron dall'apice è composto di 2-4 ramuli di 20-27 micron di lunghezza rigonfiati un pò alla base e assottigliati verso l'estremità. Al primo segue un secondo e talvolta

un terzo verticillo che di solito sono composti da un numero ridotto di ramuli. Nel complesso i conidiofori più grandi misurano 120-180 micron di lunghezza e circa 2,2 micron di larghezza: essi sono interamente ialini. Ogni ramulo porta un capolino sferico di conidi come l'estremità del conidioforo, o raramente un conidio solitario. Tali capolini misurano 8-11,5 micron di diametro. I conidi, ialini, sono anche qui di varia forma e grandezza misurando 5-7,6 × 2,4-3,6 micron e sono ellissoidali più o meno allungati. Gli sclerozzi misurano generalmente 30-90 micron.

Identificazione del parassita

Ambedue i ceppi descritti appartengono al genere *Verticillium* Nees e precisamente sono da includersi nel gruppo del *V. albo-atrum* R. e B. caratteristicamente tracheicoli. Il *ceppo b*, è per i suoi caratteri colturali e morfologici assai vicino a quello descritto da Curzi (2) col nome di *V. tracheiphilum*, che è poi affine al *Verticillium* descritto da Klebahn (5) come *V. dahliae* mentre il *ceppo a* sembra doversi ritenere come una varietà del *V. albo-atrum* senza sclerozi (vedi Conclusione).

Riproduzione sperimentale della malattia

Per assicurarmi della patogenicità, tanto del *ceppo a* che del *ceppo b*, ho praticato inoculazioni del parassita nel fusto di piante sane e succulenti della *Digitalis lanata*.

A tale scopo, dopo aver lavato con acqua distillata e disinfettato un tratto del fusto, praticavo una leggera incisione nella corteccia con una lancetta sterilizzata alla fiamma e introducevo nella ferita un po' di coltura del fungo in modo che fosse in contatto diretto col legno del fusto. Indi proteggevo il tratto di inoculazione con un battuffolo di cotone idrofilo, sterile e inumidito, e fasciavo con cellofane legando ai due estremi. Per proteggere la ferita mi sono servito anche di pellicole al collodio, e anche in questo caso ho ottenuto il risultato voluto. Opportuni controlli furono trattati nella stessa maniera.

Le piante inoculate, in numero di quindici, le tenevo in una stanza vicino alla finestra. Dopo parecchi giorni osservai un leggero cambiamento nelle piante così trattate, che consisteva in un lieve appassimento delle foglie immediatamente sopra il tratto di inoculazione in corrispondenza di questo. Dopo 13 giorni dall'operazione tagliai una delle piante che era stata inoculata con il fungo del *ceppo a* e osservai che il legno presentava una zona colorata in

bruno più o meno scuro in corrispondenza del punto d'inoculazione che si estendeva per un tratto considerevole (5-6 cm.) sopra questo punto e per brevissimo tratto anche sotto.

Al microscopio questa zona necrosata del legno mostrava le stesse caratteristiche anatomo-patologiche osservate per le piante che avevano subito l'infezione in natura. Il micelio poco abbondante, era presente in diversi vasi legnosi e dove era meno evidente l'ho individuato colla colorazione del bleu-coton all'acido lattico.

Per assicurarmi dell'identità del fungo prelevai asetticamente delle sezioni intere del fusto sopra il tratto di inoculazione fino a 6 cm. di distanza da questo e le posi in tubi con agar-fagioli. In tutte le provette dopo 1-2 giorni di permanenza in termostato, si sviluppò dalla matrice il fungo che sorgeva con ife aeree solo dalla zona necrosata della sezione. Dopo alcuni giorni potei constatare che questo fungo era perfettamente identico a quello che avevo inoculato, cioè del *ceppo a.*

Analoghi rilievi effettuai in seguito anche per le altre piante di digitale inoculate con lo stesso *ceppo a.*

Le piante inoculate col *ceppo b* presentavano le stesse modalità esterne ed interne; dopo circa 20 giorni dall'inoculazione in una di queste piante trovai che il fungo era arrivato fino a 20 cm. ed oltre dal tratto d'inoculazione. Da queste piante ho sempre isolato il fungo di partenza, cioè del *ceppo b.*

Discussione dei risultati e conclusione

Un primo risultato ottenuto dalle mie ricerche è costituito dal ritrovamento della malattia su due ospiti nuovi, la *Santolina* (Santolina Chamaecyparissus) e la *Digitalis lanata.*

Sulla prima di queste piante le mie indagini si sono limitate all'isolamento e al riconoscimento del parassita.

La seconda invece è stata oggetto di uno studio più particolareggiato esposto sopra.

Mi sembra utile, rilevare l'importanza di questo isolamento. Faccio osservare, in primo luogo, come, in seno alla famiglia delle *Scrophulariaceae* la malattia sia stata riscontrata, per il passato, con frequenza e con sicurezza solo nel genere *Antirrhinum*, se si eccetua il caso singolo citato dal Rudolph per la *Veronica elliptica* (7). Ciò interessa la polifagia del *Verticillium.*

Il fatto poi che questo ospite è ricco di composti aromatici conferma il potere di diffusione e di attacco del parassita su ogni genere di piante.

Esaminando i risultati ottenuti dalle mie esperienze, trovo che i due decorsi descritti, l'uno lento, che si verifica specialmente nelle piante giovani e succulente, l'altro più rapido proprio delle piante più mature e in fiore corrispondono abbastanza a quelli descritti da Curzi (3) per il peperone e osservati anche sul pomodoro e altre piante, ma ne differiscono in quanto nella *Digitalis* il primo decorso non si può ritenere un vero « rachitismo », e il secondo non presenta la caratteristica dell'avvizzimento centripeto come ha osservato Curzi per il peperone. Questo secondo decorso nella *Digitalis lanata*, sebbene più rapido del primo, è lento pur esso, ciò che dimostra una notevole resistenza della pianta all'azione del fungo.

Ho potuto notare anche che l'infezione nelle piante giovani e succulente non assume proporzioni considerevoli per diffusione, ciò che si verifica invece per le seconde che sono colpite quando portano ormai i fiori. Questo fatto è degno di nota se si pensa che per l'estrazione dei principi attivi le piante vengono raccolte proprio all'innizio della fioritura, prima cioè di un eventuale attacco del secondo tipo.

Per quanto riguarda i caratteri anatomo-patologici osservo che il micelio, presente costantemente in parecchi vasi delle radici e del fusto e in piccole quantità in quelli della nervatura principale delle foglie che si inseriscono direttamente sul fusto, non costituisce mai degli intrecci così fitti da opporsi, pel solo effetto meccanico, alla salita dei liquidi in modo da determinare l'avvizzimento.

Non si può nemmeno parlare di trombosi da sostanze gommose perchè esse risultano limitate sempre a pochi vasi legnosi sia del fusto che delle radici.

La causa dell'avvizzimento e del disseccamento in questo caso si deve quindi ricercare in una azione tossica esercitata dal fungo sia sui tessuti delle foglie che sugli elementi vivi del sistema conduttore [Curzi (4)].

Circa l'eziologia della malattia essa risulta complessa in quanto dai tessuti ammalati di una sola pianta sono stati isolati due ceppi di *Verticillium*, i cui caratteri si mantengono costanti nelle colture e che si sono dimostrati ugalmente patogeni.

Il primo, quello che ho chiamato *ceppo a*, per le sue proprietà di non dar luogo a nessuna formazione sclerotiale, si distingue dal secondo (*ceppo b*) che produce abbondantemente microsclerozi olivaceo-neri e ife aeree ben sviluppate.

Se si ammette la distinzione fatta dal Berkeley (1), riportata qui sotto, dei *Verticillium* tracheicoli, il *ceppo a* dovrebbe esser messo nel terzo gruppo dalla classificazione e il *ceppo b* al primo gruppo.

Classificazione dei Verticillium tracheicoli del Berkeley:

1) *Gruppo del V. dahliae*: produce sclerozi in coltura; sezione *Niger* a microsclerozi neri molto abbondanti, formanti una crosta sulla superficie della coltura, con micelio aereo scarso o assente; sezione *Bicolor* a microsclerozi neri, più o meno abbondanti, con micelio aereo ben sviluppato cotonoso che copre la superficie della coltura.

2) *Gruppo del V. albo-atrum* che produce micelio nero in coltura, ma non microsclerozi.

3) *Gruppo del V. album* che non produce nessun annerimento in coltura.

Se invece, col Wollenweber (8), i *Verticillium* tracheicoli si distinguono come segue, il *ceppo b* corrisponderebbe il *V. albo-atrum*, mentre il *ceppo a* dovrebbe rientrare nella varietà *caespitosum* perchè privo di clamidospore.

Classificazione del Wollenweber dei *Verticillium* tracheicoli:

Verticillium albo atrum R. et B. (cum sclerotiis)
» » var caespitosum (sine sclerottiis)
» » » chlamidosporalis (cum chlamidosporiis)

Non essendo però tutt'ora ben chiarita questa questione tassonomica ed essendo necessario uno studio sperimentale completo in confronto dai vari ceppi isolati e descritti dai vari AA. per definire la sistemazione specifica di questo gruppo dei microrganismi, ritengo di dover lasciare la questione impregiudicata, mantenendo tuttavia distinti i due ceppi isolati.

Una conferma che questi due ceppi sono distinti si ha specialmente come si è visto, dal fatto che nelle esperienze di inoculazione le piante inoculate col *ceppo a* hanno dato in coltura sempre il *ceppo a* e quelle inoculate col *ceppo b* hanno sempre dato il *ceppo b*.

RIASSUNTO

L'A. riscontra la tracheoverticilliosi sulla *Digilalis lanata* e sulla *Santolina Chamaecyparissus*; isola un *Verticillium* anche da piante di rosa e albicocco. Lo studio sperimentale della malattia nella *Digitalis lanata* ha permesso di riconoscere, come parassiti, due ceppi distinti di *Verticillium* (uno che produce sclerozi in coltura, l'altro senza sclerozi) coesistenti nelle piante infette.

SUMMARY

A case of Tracheoverticilliosis has been found in Digitalis lanata and in Santolina Chamaecyparissus L.

A Verticillium has been also isolated from some rose bunches and apricot trees.

From the cultural study it has been possible to establish two Verticillium forma are present in Digitalis lanata. One only of which produces sclerotia.

SUMMARIUM

Auctor Verticillium in Digitalis lanatae et Santolinae Chamaecyparissi tracheis reperit.

Verticillium etiam a Rosis et a Malis armeniacis plantis separat.

Fungi cultura ex Digitale lanata Auctorem recognoscere Verticilliorum duos stipites, ex quibus alteri sunt, alteri non sunt sclerotia, sinit (versione dell'A.).

BIBLIOGRAFIA

1) Berkeley G. H. — Report of the Dominion Field Laboratorj of Plant Pathology, St. Catharines, Ontario. — Rept. Dom. Bot. for the year 1926, Div. of Botany, Canada Dept. of Agric. pp. 59-102, 4 pl. 1927.

2) Curzi M. — Intorno alla causa dell'avvizimento del peperone (Capsicum annuum L.) — Nuovo Giorn. Bot. Ital. — N. S. 32, 4, 380 — 395 1925.

3) — Il parassitismo del «Verticillium tracheiphilum, Curzi» e la diffusione della «tracheoverticilliosi» del peperone in Italia. — Riv. di Pat. Veg. 15 (9-10): 145-160, 1925.

4) — Intorno alla tracheomicosi e a nuovi casi di verticilliosi. — Boll. della R. Staz. di Pat. Veg. (Roma). N. S. XI; 44-62, 1930.

5) Klebahn H. — Beiträge zur Kentnis der Fungi imperfecti. I. Eine Verticillium-Krankheit auf Dahlien. — Mycol. Centralbl. 3 (2): 49-66, 1913.

6) Pollacci G., Gallotti M., Fellegara C. — Sulla *Digitalis lanata*, pianta medicinale italiana. Atti Ist. Bot. Pavia. IV, vol. XI, p. 3-12, 1938.

7) Rudolph B. A. — Verticillium Hadromycosis. — «Hilgardia» vol. 5 (9): p. 892 1931.

8) Wollenweber H. W. Die Wirtelpilz-Welkekrankheit (Verticiliose) von Ulme Ahorn un Linde usw. — Arb. a. d. Biol. Reichanst. f. Land-und Forstwirtsch. 17: 273- 299, 1929.

R. UNIVERSITÀ DI PAVIA
ISTITUTO BOTANICO
E LABORATORIO CRITTOGAMICO ITALIANO
diretto dal
Prof. G. POLLACCI

R. UNIVERSITÀ DI FIRENZE
ISTITUTO DI PATOLOGIA VEGETALE
E MICROBIOLOGIA AGRARIA E TECNICA
diretto dal
Prof. R. PEROTTI

ISOLAMENTO DI SCHIZOMICETI CELLULOSITICI (*CYTOPHAGA*), ATTINOMICETI (*ACTINOMYCES*), EUMICETI DALL'INTESTINO DELLE TERMITI, E RICERCHE SULLA ATTIVITÀ CELLULOSITICA DEGLI ATTINOMICETI

Nota dei Proff. O. VERONA e E. BALDACCI

È noto come in alcune Termiti (Famiglia Termitidae) sia presente una ricca flora e fauna microbica, localizzata particolarmente nei tratti dell'intestino posteriore (post-ventricolo, vestibolo, intestino largo, intestino cieco, colon, retto). Questi microrganismi studiati da varii AA. sono riferiti a specie di Protozoi, Schizomiceti ed Eumiceti e la loro presenza è stata oggetto d'indagine nei rapporti con il metabolismo degli insetti.

Le nostre attuali ricerche intendono portare un contributo allo studio del metabolismo della cellulosa da parte delle Termiti, metabolismo che sappiamo effettuato grazie alla presenza delle microforme ricordate, nonostante vi sia divergenza di vedute nello attribuire ad un gruppo di microrganismi piuttosto che ad un altro tale attività. Difatti mentre Cleveland (6) e Dickman (8) pervenivano a resultati negativi circa la presenza di Schizomiceti cellulositici nell'intestino delle termiti, Beckwith e Rose (4) costatavano una attività cellulositica nella flora batterica presente, ma non riuscivano ad isolare i microrganismi. Sulla scorta delle indagini del Cleveland, il Trager (21) asseriva la presenza di una cellulasi secreta dai protozoi simbionti delle Termiti. D'altro canto la presenza nell'intestino di Termiti di funghi del genere *Trichoderma*, illustrati particolarmente dalla Hendee (11), e il nostro reperto di attinomiceti ponevano il problema in termini assai vasti ed interessanti data la presunta attività cellulositica di tali forme.

Esponiamo in primo luogo le nostre ricerche; mentre nella discussione dei resultati diremo più particolarmente delle altrui confrontandone gli esiti con quanto ci interessa a nostro riguardo.

Materiale e tecnica usata.

Il materiale legnoso invaso da Termiti proviene dalla Campagna romana ed è costituito da tronchi di alberi. Le specie di Termiti presenti sono riferite a *Reticulitermes lucifugus* e *Calotermes flavicollis*. Ringraziamo il Prof. C. Jucci, direttore dell'Istituto di Zoologia della R. Università di Pavia, che ci fornì detto materiale e determinò cortesemente le specie indicate. Altro materiale di studio fu costituito da detriti legnosi ed escrementizi di scafalature invase da Termiti, proveniente da Biblioteche dell'Italia Meridionale, fornitici dal Prof. A. Gallo, direttore del R. Istituto di Patologia del Libro, ed al quale vanno i nostri ringraziamenti.

Gli isolamenti sono stati effettuati insemenzando l'intero intestino posteriore o parte di esso, di insetti sia allo stato adulto sia allo stato ninfale. L'intestino veniva estratto per stiramento dal ventre con ago sterile. Si procedé pure alla dissezione degli insetti e si insemenzò il contenuto dell'ampolla cecale a parte. Infine si usò per le semine il liquido fuoriuscito dall'animale grazie ad una leggera compressione esercitata su di esso e raccolto su vetrino portoggetti sterile. In tutti i casi si ebbe l'avvertenza di sterilizzare all'esterno le Termiti immergendole rapidamente in una soluzione alcolica di bicloruro mercurico al 2 $^{0}/_{00}$.

Si usarono i comuni terreni all'agar per gli isolamenti di Attinomiceti ed Eumiceti, mentre per la ricerca di cellulositici si fece uso della tecnica ideata da Winogradski (26) su piastre al silicogele, come l'unica oggi adatta per il sicuro accertamento ed isolamento di germi cellulositici.

Isolamenti e colture.

Schizomiceti cellulositici (fig. 1, 2, 3). Nelle piastre al silicogele allestite con la tecnica di Winogradsky, si ottenero colture riferibili al genere *Cytophaga*, e più raramente al genere *Cellvibrio*. Questi resultati sono costanti sia con le varie modalità d'inoculo sia con il vario materiale sopraelencato.

Per bene effettuare l'isolamento dall'intestino delle Termiti occorre avere l'avvertenza di procedere ad inoculi abbondanti di materiale, e ciò in armonia con quanto è noto sulla biologia di tali forme, le quali si mettono in evidenza molto bene seminando

con dosi massive. Noi stessi dovemmo costatare un insuccesso nelle prime colture, effettuate con troppo scarso materiale.

È opportuno segnalare che esiti positivi di colture di *Cytophaga* si ebbero pure anche con il legno attaccato dalle Termiti, e, ciò che ha ancora più importanza, con i boli fecali degli insetti. Le Termiti possono essere così i vettori dei germi cellulositici, nei riguardi dei danni che questi producono sui libri [Verona (22)]

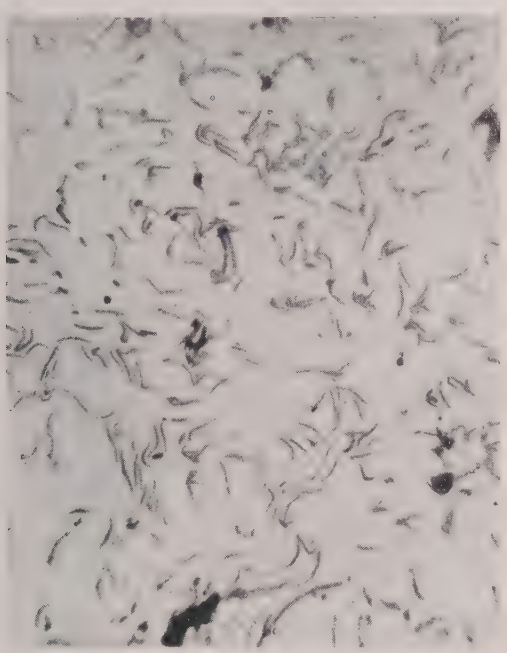


Fig. 1

e poichè essi possono preesistere anche sulla carta [Verona (23)] un circolo di queste forme è possibile anche al di fuori del terreno. Ciò interessa particolarmente la conservazione dei libri nelle biblioteche.

Attinomiceti. Le colture furono ottenute con relativa facilità sui comuni terreni all'agar (*). Le forme isolate appartengono al genere *Actinomyces*, ed hanno il caratteristico odore di muffa assai

(*) Formula usata: acqua 1000; peptone 10 gr.; estratto di carne 5 gr.; NaCl. 5 gr.; agar 20 gr.; glicerina 1 %; p H = 7,0 — 7,2.

pronunciato. Mentre lo studio delle singole specie è rimandato alle ricerche che uno di noi [Baldacci (2)] sta svolgendo su questi germi, qui è opportuno dire che si tratta in prevalenza di ceppi di *Actinomyces albus, Actinomyces griseus, Actinomyceus violaceus.* Specialmente per queste due ultime specie la sistematica è assai còn fusa, moltissime essendo le specie con vegetazione aerea grigia

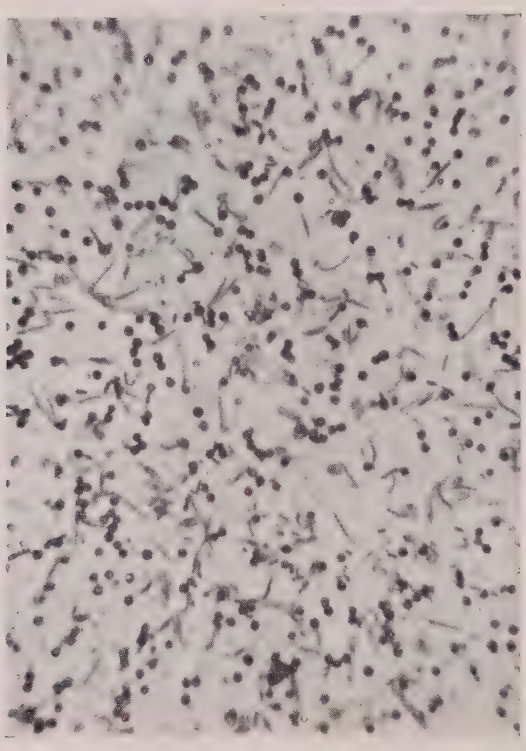


Fig. 2

o cinerea facenti capo a quello che molto impropriamente si chiama il gruppo del " *griseus* „ o anche " *scabies* „. Sono state descritte invece solo due o tre specie riferibili o simili alla prima descrizione di Rossi Doria dell'*Act. violaceus.* Rimandiamo a questo proposito a quanto a scritto uno di noi [Baldacci (1)].

Solo una specie, isolata a più riprese, si presenta con caratteristiche che non ci risultano finora descritte nella letteratura di questi microrganismi. Essa presenta un micelio vegetativo di color nero ed un micelio aereo sporificato di color cacao. Non pigmenta

il terreno mentre i colori delle colonie appaiono costanti. Produce spirali assai lunghe e ben sporificate. Le colture tramandano debole odore di muffa. Anche questa specie sarà oggetto di nostre ricerche e pertanto la contrassegnamo per il momento come " *Actinomyces* sp. ceppo HA ".

Tutti i ceppi di attinomiceti isolati, che contrassegneremo nel contesto con numeri d'ordine, furono coltivati su piastre al silicogele per lo studio della attività cellulositica, di cui è detto a pag. 294.

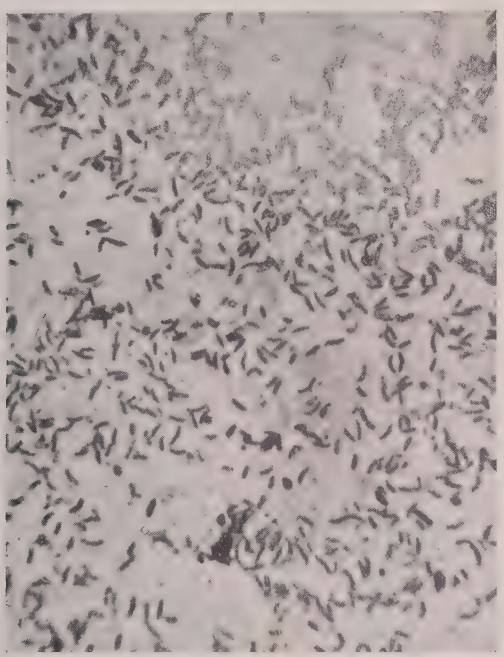


Fig. 3

Eumiceti. Le forme di Eumiceti isolati su terreni all'agar (terreno Pollacci) non presentano che scarso interesse, trattandosi di specie dei generi più diffusi, come *Penicillium, Scopulariopsis, Mucor, Alternaria, Dematium* ecc.

E' da rilevare il mancato isolamento di *Trichoderma*, che nelle ricerche già ricordate della Hendee (11) si dimostra con i *Penicillium* assai diffuso.

La presenza dei funghi nell'intestino delle Termiti non ha importanza, a nostro avviso, nel problema del metabolismo degli

insetti o lo ha solo indirettamente, costituendo essi una sorta di alimento azotato. L'azione dei funghi e particolarmente del *Trichoderma*, che stando alle ricerche di Waksman (24) mostra una notevole attività cellulositica, si esplica sul legno ma allorchè questo non è ancora ingerito dalle Termiti. Sui tronchi e sul legame in via di deterioramento lo sviluppo che possono prendervi i funghi è notevole, facilitato dalle condizioni ambientali di umidità (acqua piovana), e notevoli o almeno discrete forse possono essere le alterazioni prodotte e le decomposizioni. Ma l'azione dei funghi è fortemente ostacolata od addirittura impedita allorchè il legno è ingerito in piccoli frammenti dalle Termiti, sia per l'innalzamento del punto di acidità che nelle Termiti oscilla nei vari tratti dell'intestino fra pH = 5,0 e 6,8 [cfr. Kofoid (15)], mentre è noto come l'attività del *Trichoderma* e dei funghi si esplichi in mezzo molto acido, sia dalla rapidità di digestione delle Termiti, a cui si contrappone la lentezza dell'azione dei funghi. D'accordo quindi con i resultati ai quali sono arrivati vari AA., si può ritenere che i funghi hanno un importante ruolo nella dieta delle Terniti, per quanto riguarda le modificazioni che essi apportano nel legno prima che questo diventi cibo delle Termiti, e che essi vengano introdotti nell'intestino con il legno stesso costituendo una fonte di proteine e forse di vitamine [Hendee (11)]. Ciò concorda con la maggiore mortalità che si riscontra nelle Termiti allevate a dieta di cellulosa pura o sterilizzata. [Kofoid (15)].

Ricerche sulla attività cellulositica degli Attinomiceti.

Nella letteratura microbiologica gli attinomiceti sono comunemente designati come germi ad attività cellulositica. Le prime affermazioni a questo riguardo risalgono al Krainsky (16), il quale isolò e descrisse varie specie di attinomiceti del terreno, e ne saggiò l'attività sulla cellulosa coltivandoli in soluzioni minerali contenenti frammenti di carta da filtro. A questo A. si deve infatti un *Actinomyces cellulosae*, ed altre specie, come l'*Act. melanosporeus* e l'*Act. melanocyclus*, tutte ad asserita attività cellulositica. Uno di noi [Baldacci (2)] ha avuto occasione di avanzare dei dubbi sulla vera entità di quest'ultima specie, ritenendo che la coltura del Krainsky fosse contaminata da batteri o da autentiche forme cellulositiche. Anche l'*Act. melanosporeus*, mentre corrisponde nei caratteri morfocolturali alla descrizione di Krainsky, non manifesta posto nelle stesse condizioni alcun potere di attaccare la carta da filtro. Più tardi il Waksman (24) saggiò con il metodo indicato l'attività sulla cellulosa di alcuni attinomiceti giungendo a conclu-

dere che essa è di gran lunga più debole dei funghi (*Trichoderma* e *Aspergillus*) e della *Cytophaga Hutchinsonii.*

Gli isolamenti effettuati da noi di germi cellulositici (*Cytophaga*) e di attinomiceti ci riponeva nuovamente il problema della attività cellulositica di quest'ultimi. Decidemmo pertanto di saggiare con il metodo di Winogràsky (26), i ceppi di *Actinomyces*, isolati dallo intestino delle Termiti, e di altri in nostro possesso, nonchè dello *Actinomyces cellulosae* Krainsky, di cui ci fu rimesso cortesemente un trapianto dal Centralbureau voor Schimmelcultures di Baar, che vivamente ringraziamo. Diamo qui a seguito l'elenco dei ceppi saggiati:

Actinomyces albus: ceppo M 1; ceppo O 5; ceppo O 3; ceppo Ba 1; ceppo O 6; ceppo C 13 R 5; ceppo A P I; ceppo O 2.

Actinomyces griseus: ceppo conservato nella Micoteca del Laboratorio Crittogamico.

Actinomyces sp. ceppo Lò 2.

A questi sono da aggiungere i ceppi isolati dalle Termiti e cioè:

Actinomyces albus: ceppo N. 7 R, isolato dall'intestino di *Reticulitermes lucifugus.*

Actinomyces albus: ceppo S, isolato da legno attaccato dalle Termiti.

Actinomyces griseus: ceppo N. 7 R, isolato come il corrispondente *Act. albus.*

Actinomyces violaceus: ceppi N. 1 R, e N. 3 R; isolati dall'intestino di *Reticulitermes lucifugus.*

Actinomyces sp.; ceppo a (C), e ceppo HA; isolati dall'intestino di *Calotermes flavicollis.*

Infine l'*Actinomyces cellulosae*, di cui si è detto sopra e che costituisce un trapianto dell'originale di Krainsky. L'elenco qui riportato è fatto esclusivamente per designare i ceppi che saranno oggetto di ulteriori contribuzioni, a seguito di quelle effettettuate da uno di noi (2), poichè agli effetti della ricerca sull'attività cellulositica tutti i ceppi hanno dato esito completamente negativo.

Le colture furono effettuate su piastre al silico-gele, sopra le quali portammo il materiale talora abbondante per stimolarne la crescita, e proveniente da colture in agar. Coltivammo il termostato per oltre un mese ma senza resultato, come si è detto, non riuscendo ad ottenere un qualsiasi sviluppo. Altri saggi furono effettuati con il metodo indicato di Krainsky (16) coltivando su carta da filtro immersa in una soluzione minerale così costituita: K_2HPO_4: 0,1 gr.; $(NH_4)_3PO_4$: 0,5 gr.; acqua 1000. Non si ebbero resultati ad eccezione di un ceppo di *Act. albus*, della Micoteca del Labo-

ratorio Crittogamico e del *Proactinomyces Lieskei* (Puntoni) Bald., i quali pur sviluppando leggermente non dimostrarono di intaccare la carta da filtro. In queste condizioni l'*Act. melanosporeus*, di nostro isolamento, lascia la carta leggermente corrosa, ma senza colorirla, come asserisce il Krainsky. Non fu sperimentato in queste condizioni l'*Act. cellulosae*.

Discussione dei resultati e conclusione.

E' noto come nella generalità dei casi, il problema della cellulosa si risolve per mezzo di una correlazione funzionale tra animali e microrganismi, tra i quali sono da porsi in primo luogo gli Schizomiceti, la cui azione cellulositica è rapida e profonda. A questi si riferiscono per quanto è stato finora segnalato forme aerobiche ed anaerobiche. Fra quest'ultime è da porsi il *Bac. cellulosae dissolvens* isolato dall'intestino umano da Y. Khouvine (14); il *Bacillus cellulosam fermentans* descritto da E. Werner (25), che lo isolò da larve di *Ptosia cuprea*; il *Pectridium cellulolyticum*, isolato da vari ruminanti da Pochon (19). La specie isolata da Khouvine, produce acido butirrico, quella isolata da Pochon, acido formico, acetico, e in minore quantità, propionico, e si discostano ambedue notevolmente dalle prime specie cellulositiche isolate e descritte da Omeliansky (20). Tra il gruppo degli aerobi rientrano le specie segnalate da Winogradsky (26) appartenenti ai generi *Cytophaga*, *Cellvibrio*, *Cellfalcicula*, isolate dal terreno e successivamente ritrovate da vari AA. nel letame, nel rumine, nelle feci dei bovini e in mezzi diversi. Numerosi sono gli studi sulla digestione xilofaga degli insetti a mezzo di batteri simbionti, ma riteniamo qui inutile soffermarvici.

Nelle Termiti la ricerca di germi cellulositici fu effettuata negativamente da Cleveland (6) e da Dickman (8). Il Cleveland non fece uso della tecnica del Winogradsky, e rilevando la presenza di fragmenti di legno nell'interno dei Protozoi, come era già stato osservato dai nostri Grassi (9, 10) e Buscalioni e Comes (5), finì con l'attribuire il compito di digerire la cellulosa ai Protozoi.

Il Dickman più tardi riusciva a costatare la presenza nel legno attaccato dalle Termiti, di batteri cellulositici, con la coltura in piastre al silicogele, ma poichè tale ricerca era negativa con le semine di liquido e porzioni dell'intestino degli insetti concludeva negativamente nei riguardi dell'importanza di questi germi nella digestione delle Termiti stesse. Prima di questo A., Beckvith e Rose (4) erano riusciti a mettere in evidenza una attività cellulositica dovuta a batteri in colture fatte in soluzioni minerali e carta da filtro.

Questa attività era manifesta in 11 saggi su 85 eseguiti in condizioni di aerobiosi. Tuttavia i tentativi per isolare e coltivare i microrganismi fallirono tutti; parimente le colture poste in condizioni di anaerobiosi non manifestarono attività cellulositica. Le osservazioni al microscopio permettevano ai due AA. di asserire che la flora cellulositica era costituita da forme a bastoncino gramnegative e da micrococci, mentre erano da escludere le spirochete e i protozoi. Il Dickman, già ricordato, impugnava questi resultati criticando il metodo di sterilizzazione delle Termiti, eseguito con tintura di iodina (U. S. P.) per 45 secondi. La breve esposizione e il formarsi di bollicine d'aria durante l'immersione, non era sufficiente, al dire dal Dickman, per sterilizzare sicuramente l'epidermide delle Termiti.

A nostro avviso il difetto e l'insufficienza delle esperienze di Beckvith e Rose, sta nel aver fatto uso di una tecnica insufficente per mettere in evidenza le forme cellulositiche, quando ormai gli studi di Winogradsky, dimostrano la superiorità e la completezza del metodo da lui stesso ideato. Che se poi l'osservazione di Dickman fosse nel giusto, circa l'insufficente sterilizzazione esterna delle Termiti, le colture avrebbero dovuto dare più facili e più abbondanti saggi positivi, data la grande presenza di germi cellulositici, nel legno.

Le nostre ricerche dimostrano oramai indiscutibilmente la presenza di questi microrganismi nell'intestino delle Termiti, e negli escrementi di questi insetti, e ci fanno concludere che anche in questo caso la correlazione funzionale della digestione della cellulosa si esplica attraverso la simbiosi degli Schizomiceti cellulositici.

Questi resultati appaiono in contrasto con alcune ricerche di Cleveland (6) e con quelle di altri AA. che alle ricerche di Cleveland si ispirarono.

Il Cleveland (6) in una serie di lavori dimostrava che è possibile defaunare le Termiti con vari accorgimenti e che le Termiti così defaunate muoiono, dopo 10-20 giorni, per incapacità di digerire la cellulosa. La loro vita è invece prolungata o addirittura scongiurata la morte, se si alimentano le Termiti defaunate con zuccheri come era stata sperimentata da Montalenti (17) o se si somministra legno attaccato da funghi, attinomiceti e batteri, aventi cioè la cellulosa in qualche modo degradata. Questo e altre osservazioni collaterali inducono l'A. a concludere che è probabile, se non certo, che le Termiti dipendano dai Protozoi per la digestione del legno. Tali considerazioni erano rafforzate dall'esito negativo delle ricerche intraprese dall'A. stesso nei riguardi dello isolamento di schizomiceti e funghi cellulositici dall'intestino delle

Termiti. Ulteriori lavori illustrano il metodo di cattura da parte dei Protozoi intestinali delle particelle di legno e la possibilità di mantenere in vita le Termiti, con i Protozoi simbionti, con una dieta di pura cellulosa. Infine in un ultimo lavoro, l'A., svolgendo altre considerazioni sulla simbiosi fra Termiti e Protozoi, è indotto ad accettare la possibilità che le spirochete delle Termiti, aderenti ai flagelli dei Protozoi, abbiano un ruolo nelle digestione della cellulosa, sulla scorta dei lavori di Holland (12) e di Damon (7). In un " addendum " al lavoro stesso per altro il Cleveland asserisce di aver potuto allontanare le spirochete dall'intestino delle Termiti e di aver potuto mantenere in vita le Termiti stesse. Ciò dimostrerebbe a detta dell'A., la scarsa importanza di queste forme e la predominante azione dei Protozoi nella digestione della cellulosa.

Sulla scorta dei lavori del Cleveland, il Trager (21) effettuò nuove ricerche. In un primo lavoro riferisce sull'isolamento di una cellulasi complessa (cellulasi e cellobiasi) dai flagellati simbionti delle Termiti e del *Cryptocercus punctulatus*. In un secondo lavoro è illustrata la coltura di *Tricomonas termopsidis*, da *Termopsidis angusticollis*, e di *Trichomonas* sp. da *Reticulitermes flavipes* e *Tricercomitus termopsidis* da *Termopsis angusticollis*. Di questi microganismi solo il primo possiede una attività cellulositica.

Tuttavia l'impossibilità di ottenere questo protozoo libero dai batteri nelle colture pone una riserva agli esiti ottenuti dall'A. Difatti se nel primo lavoro egli scriveva che questi batteri saggiati sulla cellulosa (ma non con il metodo di Winogradsky) si mostravano incapaci di attacarla, mentre fermentavano il glucosio, nel lavoro successivo è precisato che la coltura del *Trichomonas termopsidis* era ottenuta solo usando cellulosa e che lo sviluppo del flagellato non si aveva se questa era sostituita con cellobiasi, amido, destrina, inulina, glicogeno, agar, cellulosa ottoacetata. Sotto questo rispetto, scrive lo stesso A., il protozzo si mostra più vicino a certi batteri cellulositici del tipo *Cytophaga*.

A questo punto ci soccorrono le ricerche di Pierantoni (18). Questo A. mette in luce per primo con ricerche citologiche la presenza di simbionti endocellulari nei flagellati delle Termiti; particolarmente delle specie *Reticulitermes lucifugus* e *Calotermes flavicollis*, che sono le due specie più frequenti in Italia. Tali simbionti sono riferiti a batteri e sono facilmente isolabili e coltivabili, a detta dell'A., il quale ritiene che per mezzo di questi, i flagellati effettuino la decomposizione della cellulosa del legno ingerito. Nel *Calotermes*, inoltre il Pierantoni, mette in evidenza uno strato batterico aderente alle pareti dell'ampolla cecale. Con la defauna-

zione tale strato tende ad aumentare e rendersi maggiormente visibile. Questi fatti acquisiti dall'A. trovano nelle nostre ricerche una riprova, la quale potrà essere maggiore e forse definitiva se si potrà saggiare queste forme isolate sulle piastre al silicogele. Difatti è evidente come un esito positivo delle colture di batteri del corpo del flagellato e dello strato epidermico dell'ampolla cecale, con il metodo di Winogradsky potrà portare in luce la vera natura di questi germi.

La simbiosi fra Flagellati e cellulositi spiegherebbe i resultati di Trager detti sopra, e quelli di Cleveland, sulla morte per defaunazione delle Termiti. Allo stato dei fatti essa appare tutt'altro che improbabile. Che poi la simbiosi possa effettuarsi anche o parzialmente direttamente fra Termiti e batteri risulta oltre che dalle citate ricerche di Piarantoni, da quelle di Jucci (13) sulla presenza di batteriociti nel *Mastotermes* analogamente a quanto si riscontra nei Blattidi. Questo A. esclude per altro la presenza di batteriociti nel *Termes lucifugus* e nel *Calotermes flavicollis*.

Volendo riepilogare e schematizzare la nutrizione idrocarbonata delle Termiti sarebbe effettuata attraverso queste fasi: *a*) ingestione del legno da parte delle Termiti e cessione parziale ai Protozoi; *b*) degradazione della cellulosa del legno da parte dei batteri aderenti alle pareti intestinali (ampolla cecale); *c*) degradazione da parte dei simbionti dei Flagellati; *d*) cessione dei prodotti degradati alle Termiti attraverso l'assorbimento intestinale e la protozoofagia. Le fasi di cui in *b*) e *c*) sebbene assai fortemente indiziate richiedono, come si è detto, una riprova colturale per la definitiva accettazione. Solo se questo controllo fosse negativo allora si può accettare l'ipotesi che in effetto alcuni Protozoi possono attaccare la cellulosa e vivere alla stregua degli Schizomiceti cellulositici.

Per quanto riguarda gli esiti delle ricerche sulla attività cellulositica degli attinomiceti, si deve osservare che esse trovano conferma nelle osservazioni di Winogradsky (26). Questo A. aveva rilevato come negli isolamenti su piastre allestite secondo la sua tecnica non sviluppassero attinomiceti, i quali invece vi crescevano se si aveva cura di aggiungere alle piastre al silicogele materia umica. Poichè questi germi erano gli unici a sviluppare in tali condizioni, se si eccettuano alcune forme batteriche particolari, il Winogradsky ne deduceva che " les actinomyces s'accommodent des materies humiques comme seul aliment, lesquelles sont à considerer comme le residu des actions microbiennes sur la substance des vegetaux. Ces organismes se contentent donc du rebut des autres,

et cette conclusion s'accorde bien avec le fait du developpement extremement lent qui leur est propre et qui les met en etat d'infériorité èvidente dans toutes les compètitions autour de la matière energètique „. Se quindi in natura gli attinomiceti esplicano una qualche azione sulla cellulosa, essa si esercita forse sulle fasi ulteriori (ad es. emicellulose). In ogni modo è da escludere un loro intervento a favore delle Termiti nell'intestino delle Termiti stesse.

RIASSUNTO

Gli AA. sono riusciti ad isolare per la prima volta Schizomiceti cellulositici del genere *Cytophaga* ed attinomiceti del genere *Actinomyces*, dall'intestino delle Termiti. Sono altresì isolate alcune specie fungine. Gli attinomiceti isolati non dimostrano di possedere capacità di attaccare la cellulosa, analogamente a quanto accade per altri ceppi di diversa provenienza degli stessi microrganismi.

Gli AA. confrontano e discutono i loro resultati con quelli di altri AA. tendenti ad attribuire ai Protozoi simbionti delle Termiti una attività cellulositica, che ad essi non sembra sufficentemente provata. Gli AA. ritengono che tale attività si possa invece attribuire ai batteri simbionti dei Protozoi e a quelli aderenti alle pareti dell'intestino delle Termiti stesse.

SUMMARIUM

AA. prîmi nonnullas species *Schizomycetum* (Cytophagam) et *Actinomycetum* e Thermitarum intestinis separare potuerunt. Hic accuratius anquirunt atque perpendunt quid ad Thermitas alendas haec semina conferant.

SUMMARY

From the intestinal apparatus of the Termites were isolated for the first time, cellulositic bacteria of the genus *Cytophaga*, in addition to ray-fungi of the genus *Actinomyces* and species of true fungi previously known. The cellulositic activity of *Actinomyces* has not been, instead, experimentally demostrated.

The results obtained are discussed in relation to the presumed cellulositic activity of Protozoa symbiotic of the Termite ants.

BIBLIOGRAFIA

(1) Baldacci E. — Boll. Sez. Ital. Soc. Int. Microbiologia **V**, maggio (1937).
(2) — Atti Ist. Bot. Pavia. Serie IV; **10**, 321-329 (1938) **11** (1939) Mycopathologia, **I**, 271-272, (1938).
(3) — Boll. Soc. Ital. Biologia Sper. XIII, 1187-1188 (1938).
(3 bis) — Mycophatologia, II, 84-106. (1939).
(4) Beckwith T. D. e Rose E. L. — Proc. Soc. Exper. Biol. Med. **27**. I, (1927).
(5) Buscalioni I. e Comes S. — Atti Accad. Gioenia Sc. Nat. Catania: V, **3**, 1-15, (1910).
(6) Cleveland L. R. — Biol. Bull. XLVI, 178-201; 203-227; (1924); ibidem XLVIII, 289-293; (1925), 282-288 (1925) 295-308; 309-326; (1925); ibidem LIV, 231-237, (1928).
(7) Damon S. R. — Journal. Back. II, 31-36, (1926).
(8) Dickman A. — Biol. Bull. LXI, 85-92; (1931).
(9) Grassi B. — Mem. R. Accad. Lincei, (5) **12**.
(10) — e Foà A. — Rend. Acc. Lincei, **18**.
(11) Hendee E. C. — Science, n. s., **77**, 212, (1933) **80**, 316, (1934) e Hilgardia **9**, 499; (1935).
(12) Holland A. C. — Arch. Zool. Exper. et Gen. Notes et Revue. **61**, 23-24, (1922).
(13) Jucci C. — Mem. R. Accad. Lincei (5) **14**, 1-235; (1923).
(14) Khouvine Y. — C. R. Soc. Biol. **94**, (1926).
(15) Kofoid C. A. — *Termites and termite control* (Berchley) 1934.
(16) Krainsky A. — Centralb. f. Bakt. II abt. **41**, 649-688; (1914).
(17) Montalenti G. — Rend. R. Acc. Lincei. (6) **6**, (1927).
(18) Pierantoni U. — Arch. Zool. Ital. **22**, 135-173; (1936).
(19) Pochon J. — Ann. Ist. Pasteur, **55**, (1935); C. R. Acad. de Scienc. **202**; (1936); C. R. Soc. Biol. **125**, (1937), id. **126**, (1937) id. **127**, (1938).
(20) Omeliasnsky V. — C. R. Ac. de Scienc. **121**, 653, (1895); Cent. Bakt. II abt; **8**, 193, (1902); II, 369, (1903) **12**, 33, (1904).
(21) Trager W. — Biochem. Jour. **26**, 1762, (1932) ed Biol. Bull. **46**, 182-190, (1934).
(22) Verona O. — Accademie e Biblioteche d'Italia, anno XI, (1937).
(23) — Bull. Soc. Int. Microbiologia (Sez. Ital.) **10**, 91-92, (1938)
(23 bis) — Studi sulle cause microbiche che danneggiano la carta e i libri. Ente Naz. per la cellulosa e per la carta 1939 (Roma),
(24) Waksman S. A. — *Principles of soil microbiology*. (1932).
(25) Werner E. — Centr. Bakt. II abt; **67**, 297-330; (1926).
(26) Winogradsky S. — Ann. Ist. Pasteur. **39**, 348; (1925; **43**, 559; (1929) **48**, 133, (1932).

R. UNIVERSITÀ DI PAVIA
ISTITUTO BOTANICO « GIOVANNI BRIOSI »
E
LABORATORIO CRITTOGAMICO ITALIANO
DIRETTI
dal Prof. **GINO POLLACCI**

PER L'AUTARCHIA NAZIONALE

LO SFRUTTAMENTO DELLE ACQUE TERMALI A VANTAGGIO DELLA ORTICOLTURA ITALIANA

Nota del Prof. **GINO POLLACCI** (1)

Nessuna parte dell'Europa si presta meglio della nostra penisola per l'orticoltura e floricoltura a pien'aria e sotto vetri. Su questa affermazione io credo di avere consenzienti la totalità degli agricoltori del mondo. Ma purtroppo devo far seguire un'altra constatazione e cioè che l'Italia in confronto alle principali nazioni europee non occupa il primo posto per i suoi prodotti agricoli floreali. Quando si pensa che l'Olanda, il Belgio, la Francia settentrionale, con il loro cielo sempre grigio, martoriati dal gelo per la massima parte dell'anno, innondano i mercati d'Europa con una produzione floreale straordinariamente grande e soprattutto superba, io mi sono ripetutamente chiesto qual'è la causa del nostro distanziamento in questa gara agricola.

Bianchedi molto giustamente scrive (2): « Alle frontiere arrivano a decine vagoni dal Belgio, dall'Olanda e da altri paesi, di piante vive ed ornamentali, bulbi e sementi, ecc., e specialmente *Azalee*, *Rododendri*, *Kentie*, *Araucarie*, *Cocos*, arbusti diversi, ecc., tutte piante che si potrebbero benissimo ottenere e propagare in casa nostra. Chi non ha visto come nascono e prosperano le *Kentie* in Riviera ed in piena terra, non saprebbe spiegarsi perchè se ne fac-

(1) Parte di questa nota è già stata pubblicata nel *Giornale di Agricoltura della Domenica*. n. 26. 25 giugno 1933-XI, Roma.

(2) *La costa azzurra* n. 4-1933-XI.

ciano arrivare intieri vagoni dal Belgio il quale ci manda anche vagoni completi di piante di lauro in vaso che è tipicamente caratteristico nella nostra flora Mediterranea, spontaneo da noi e che nel Belgio invece è ottenuto con semi italiani incettati sul Lago di Garda e coltivato in un clima non suo che chiede durante l'inverno tepidari e serre ».

Le cause di questo sconfortante fatto indicate da diversi colleghi sono varie. Essi dicono: L'Italia manca di carbone; l'Olanda, il Belgio e gli altri paesi nordici, pur avendo bisogno di riscaldare maggiormente le loro serre, finiscono a spendere meno di noi per le calorie necessarie alle loro colture.

Avendo tali paesi ormai ammortizzati i loro impianti si trovano in condizioni privilegiate in confronto di chi debba fare come noi nuovi impianti, perchè gli attuali sono affatto insufficienti per vincere la loro concorrenza.

Aggiungono che l'Italia è povera mentre i suoi concorrenti sono ricchi, inoltre, e questa è una voce generale, noi manchiamo di maestranza adatta.

Nel nostro paese manca una forma di organizzazione che disciplini tale commercio.

Non si può negare che simili argomentazioni facciano un po' pensare, ma discutiamole una per una.

Incominciamo dalla maestranza. E' vero purtroppo che noi manchiamo di tecnici specializzati per le primizie orticole e molto più per la coltura di piante da fiori ed ornamentali da serra calda e temperata. Il materiale greggio atto a farsi abile non manca.

Se noi visitiamo in Belgio ed Olanda i principali stabilimenti di floricoltura ed orticoltura, vedremo un numero non indifferente di Italiani impiegati non solo negli usuali uffici secondari, ma anche come capi giardinieri, capi coltivatori che godono la fiducia dei loro dirigenti e sono tenuti ben cari da essi.

Ma questi operai non si sono fatti in Italia, essi si sono fatti all'estero. Nella nostra Nazione mancano scuole pratiche che formino giovani atti a coltivare piante di serra calda. E' questa una lacuna grave che assolutamente è necessario colmare se vogliamo, non dico superare ma almeno avvicinarci alle Nazioni che hanno fatto della flora ed orticoltura una specializzazione quanto mai progredita.

Abbiamo in Italia diverse buone Scuole agrarie medie. Alcune di queste si dovrebbero specializzare per la creazione di personale atto a dirigere tali colture e nello stesso tempo organizzare alcune Scuole di avviamento professionale per la formazione di finiti

giardinieri ai quali si possa con fiducia assegnare il compito di coltivare tutte le piante che ora vengono importate dall'estero e che hanno bisogno di una maestranza specializzata.

In quanto al carbon fossile è vero che noi non ne abbiamo in abbondanza in casa nostra e quindi il prezzo delle calorie necessarie per colture razionali moderne, servendoci di carbone per ottenerle, è certamente superiore a quello dei nostri concorrenti. Indipendentemente però dal clima dell'Italia più caldo di quello dei paesi settentrionali, noi abbiamo nel suolo, delle energie endogene che dovrebbero essere utilizzate nell'interesse nazionale oltre che dei

(Foto Pollacci) (Dal Giornale di Agricoltura della Domenica)

Fig. 1

singoli e che possono essere più vantaggiose per l'orticoltura nazionale, economicamente considerate, delle miniere di carbone in Francia, Belgio ed Olanda.

Chi percorre il territorio prospicente Valdieri e la città di Acqui in Piemonte, di Larderello in Toscana, di Ischia nel Napoletano o meglio ancora di alcune vaste zone della pianura Euganea in provincia di Padova, specialmente nei pressi di Abano e paesi vicini, resta attonito nel vedere scaturire dal terreno getti di acqua fumante. Essa continuamente da secoli forma rigagnoli e rivi abbondanti d'acqua scottante, avente 60-80 e più gradi centigr. di temperatura, che solo ora viene usata a Larderello oltre che per

industrie chimiche anche quale sorgente di energia elettrica ed in alcuni stabilimenti per cure terapiche, ma nella massima parte inutilizzata. Anche quella minima che serve per scopi industriali o terapeutici esce dagli stabilimenti ancora calda e si disperde nel terreno non più sfruttata. Si pensi quanto calore gratuito viene così indifferentemente sprecato!

Le calorie complessive di quest'acqua sono sufficienti per riscaldare quasi gratuitamente tutte le serre che sono nel Belgio e nell'Olanda.

Il suo sfruttamento per tale scopo, dovrebbe essere quanto mai

(Foto Pollacci) (Dal Giornale di Agricoltura della Domenica)

Fig. 2

semplice e pratico. Basta che quest'acqua calda venga raccolta in vasca ed entro questa vasca si mettano tubi a serpentino contenenti acqua che vanno ai radiatori; questa vasca costituise la caldaia dei soliti comuni termosifoni e l'acqua circola nei vari ambienti partendo da una temperatnra dai 60° a 65° C.; più che sufficiente per gratuitamente riscaldare a 20°-30° C. vastissimi locali. L'acqua che circola nei termosifoni non può essere quella della sorgente termale perchè ricca di iodio, bromo, acido solfidrico ecc., che deteriorerebbe in breve tempo i tubi stessi. Un esempio che ci garantisce che tale sistema sia ottimo l'abbiamo in stabilimenti termali di Abano, dove, per es., in quello Cortesi Meggiorato del cav.

Sartori, si può vedere il riscaldamento d'inverno di tutto l'albergo ottenuto con termosifoni che funzionano nel modo da me sopra descritto.

Ma un'altra prova più convincente l'abbiamo in un esperimento fatto dai sigg. fratelli Sgaravatti della Ditta Sementi, che merita tutto l'incoraggiamento delle Autorità superiori e di quanti hanno a cuore l'avvenire della nostra floro-orticoltura nazionale.

I fratelli Sgaravatti, conosciutissimi e benemeriti orticoltori che, com'è noto, si sono guadagnati giustamente con il loro perseverante lavoro ed organizzazione, uno dei primi posti fra i produt-

(Foto Pollacci) (Dal Giornale di Agricoltura della Domenica)

Fig. 3

tori di sementi e piante, hanno in quel di Abano, e precisamente a S. Pietro di Montagnon utilizzato una imponente sorgente che continuamente riversa alla superficie un getto abbondante di acqua calda avente circa 70°-82° C. di temperatura. Nella fig. 1 è riprodotto questa fonte che viene utilizzata dai sgg. fratelli Sgaravatti per ora solo in minima parte immettendo tale acqua calda nella vasca che si vede riprodotta nella fig. 2; immersi in tale vasca stanno dei tubi ripieni di acqua comune che scaldandosi circola come avviene nei termosifoni situati in varie serre, mentre l'acqua calda esce dalla vasca ricolma e si disperde ancora fumante non più utilizzata a mezzo di canali di scolo (fig. 3).

In tale modo hanno genialmente i sigg. fratelli Sgaravatti riscaldato gratuitamente le dette serre. Non è per ora che un modesto impianto, ma secondo me rappresenta già un primo passo che potrebbe avere in seguito importanza di grande portata. Purtroppo contro questo primo tentativo così encomiabile si sono sferrate liti di vicini, di proprietari di alberghi termali, ecc., tanto da aver forse fatto pentire i sigg. fratelli Sgaravatti della presa iniziativa, ma ormai la prova sperimentale esiste e ben riuscita.

A nessuno può sfuggire quali estese ragioni potrebbero essere coltivate a primizie e piante ornamentali con riscaldamento gratuito sotto vetri, in concorrenza con i paesi annebbiati e che pagano il riscaldamento.

Il Governo Fascista, una volta messo al corrente di questa possibile nuova forma geniale di attività agraria tutt'affatto italiana, certamente la organizzerà, la disciplinerà e potrà farne fonte di produzione che non può altro che portare un notevole beneficio al bilancio dello Stato. Non può ciò sfuggire alla mente preveggente del nostro Duce e Capo del Governo e quindi ho fiducia che quanto ho detto debba avverarsi. L'essere gli impianti per le colture così perfezionati all'estero e veramente insufficienti e miseri da noi, non mi pare un argomento serio perchè quello che non vi è, vi potrà essere in avvenire, perchè se è vero che per fare tali impianti sono necessari purtroppo dei forti capitali, è altrettanto vero che quando è dimostrabile che un anticipo porta un tornaconto, presto o tardi il denaro si trova.

Certamente c'è tutto ancora da fare per l'organizzazione riguardante il collocamento del prodotto. Se si tolgono i mercati di fiori recisi comuni della Riviera, che funzionano in complesso bene, i pochi produttori di quei prodotti orticoli di primissimo ordine che noi facciamo venire in grande quantità dall'estero sono completamente isolati, divisi, abbandonati si può dire a sè stessi, tentano di vivacchiare il meno peggio possibile, ma vivono male e vivendo senza fiducia non pensano neppure lontanamente di volere e potere fare concorrenza all'estero coi propri prodotti!

Bisogna ch'essi siano inquadrati come incominciano ad esserlo seriamente diversi prodotti facenti parte di altri rami commerciali. Bisogna che comprendano che il vendere, per esempio, a sotto, costo, è un danno in generale in gran parte causa delle dificoltà attuali; bisogna che essi comprendano che la grande onestà in commercio è la migliore arma per vincere i mercati e che il perfezionamento del prodotto può dare ai produttori il modo di superare anche le più gravi depressioni commerciali.

Concludendo io credo che la nostra orto-floricoltura avrà un avvenire certo e che essa diventerà una delle nostre maggiori risorse nazionali atta a piegare a nostro favore la bilancia commerciale a noi troppo sfavorevole.

Noi abbiamo la possibilità di avere calore pressochè gratuito in sostituzione del carbone fossile proveniente dall'estero. Abbiamo un popolo intelligente, laborioso che fuori dei suoi confini ha mandato figli divenuti ottimi orticoltori e non pochi specializzati per colture orticole, piante e fiori di lusso.

Il cammino da compiere è lungo e non privo di difficoltà ma la vittoria la ritengo sicura.

Sono sorti in Italia stabilimenti industriali che non temono il confronto con i maggiori dell'estero, basta ricordare i nostri Cantieri navali, gli stabilimenti per la costruzione degli automobili, dei cappelli, delle macchine da scrivere, delle macchine da cucire, della seta artificiale, dei tessuti ecc., e possiamo forse dubitare di non trovare capacità e capitali sufficienti per l'impianto di stabilimenti orticoli eguali se non superiori a quelli dei nostri attuali fornitori di oltre confine?

Il Governo Fascista Nazionale forte perchè gode la fiducia di tutta la Nazione, e che della soluzione del problema agrario si è formato uno dei più importanti capisaldi del suo programma, è pure un grande coefficiente di successo; Egli certamente proteggerà ed incoraggerà tali iniziative che spero ed anzi credo fermamente destinate a sorgere ed affermarsi presto nel nostro Paese.

Tutto questo lo scrivevo sino dal 1933 (1).

Durante questi sei anni le serre della Ditta Frat. Sgaravatti (Sementi) di S. Pietro di Montagnon hanno continuato a funzionare utilizzando il calore dell'acqua calda del sottosuoluo ed anzi la suddetta Ditta ha istituito di nuovo un essiccatore per sementi a calore gratuito.

E' anche questa una iniziativa degna di essere imitata non solo per i semi, ma anche per la preparazione di verdure essiccate.

Siamo ora in periodo di lotta per ottenere l'assoluta autarchia nazionale e per vincere la concorrenza straniera nella nostra esportazione di prodotti orticoli, onde avere l'immenso vantaggio per noi preziosissimo, di importare in Italia della moneta pregiata; quindi io insisto perchè la mia proposta non la si lasci cadere, ma invece venga presa in considerazione e perchè il nostro Governo, anche

(1) Giornale di Agricoltura della Domenica N° 26. 25 Giugno 1933-XI.

con la collaborazione del Consiglio Nazionale delle Ricerche aiuti ed incoraggi gli agricoltori a dedicare le loro attività a questa nuova applicazione delle risorse naturali esistenti in Italia a tutto vantaggio della indipendenza economica del nostro paese e della ricchezza nazionale.

Le sorgenti di acque termali in Italia sono numerose; trattasi di diverse migliaia di ettari di superficie che, in grazia del calore gratuito dell'acque termali, potrebbero essere coltivate a fiori di valore ed a primizie alimentari; a prodotti quindi di grande reddito e ricercatissimi in Italia ed all'Estero.

Istituto Botanico di Pavia
Novembre 1939-XVIII.

R. UNIVERSITÀ DI PAVIA
ISTITUTO BOTANICO « GIOVANNI BRIOSI »
E
LABORATORIO CRITTOGAMICO ITALIANO
DIRETTI
dal Prof. **GINO POLLACCI**

SINCOTILIA E FILLORIZA

Memoria del Prof. **FLAVIO GIUSEPPE ELISEI**
Assistente al R. Istituto Botanico

(Con 5 figure nel testo)

Introduzione.

Tra le ipotesi più interessanti, ma anche più ardite, che sono state emesse per interpretare la morfologia della plantula delle Monocotiledoni, devono essere ricordate soprattutto la teoria della sincotilia e la teoria della filloriza, che tra loro evidentemente si escludono.

Secondo la teoria della sincotilia, teoria della inglese SARGANT E. (1903), la plantula di una Monocotiledone ha lo stesso valore morfologico della plantula di una Dicotiledone, poichè differisce da quest'ultima fondamentalmente solo per avere i due cotiledoni tra loro coalescenti in modo da simulare perfettamente un embriofillo unico.

Secondo la teoria della filloriza, teoria del francese CHAUVEAUD G. (1921), esiste invece una grande differenza morfologica tra la plantula di una Monocotiledone e quella di una Dicotiledone, perchè la prima corrisponde solo alla metà longitudinale della seconda; la prima è una sola *filloriza*, mentre la seconda è costituita da due fillorize tra loro coalescenti per i *cauli* e per le *rize*. CHAUVEAUD G., chiama *filloriza* una pianta in miniatura, distinguibile in due parti principali, una inferiore, detta *riza*, e una superiore, detta *filla*. Quest'ultima porta inserito lateralmente, dal lato della sua superficie interna, ad un certo livello, il meristema caulinare, destinato a differenziarsi in gran parte in una nuova filloriza, e destinato in parte a formare il meristema caulinare della nuova filloriza. Per

la presenza del meristema caulinare la *filla* di ogni filloriza è distinguibile in due parti, chiamate *foglia* e *caule*; *la foglia* è la parte della *filla* situata sopra il meristema caulinare, e il *caule* è la parte della *filla* situata sotto il meristema caulinare.

Quindi per questa teoria la radice principale della plantula di una Monocotiledone è una *riza*, l'ipocotile è un *caule* e il cotiledone è una *foglia*; mentre la radice della plantula di una Dicotiledone è costituita da due *rize* tra loro fuse, l'ipocotile è costituito da due *cauli* tra loro fusi, e il cotiledone è la *foglia* dell'una o dell'altra filloriza, le quali sviluppatesi contemporaneamente e in coalescenza tra loro con le altre loro parti, hanno formato la plantula dicotile.

Il seguente breve riassunto bibliografico, dal quale ho creduto opportuno far precedere l'esposizione delle mie ricerche, dimostra chiaramente che nuovi studi, specialmente di morfologia interna, tutt'ora s'impongono per stabilire la maggiore attendibilità dell'una o dell'altra teoria, o la scarsa attendibilità di entrambi.

Riassunto bibliografico.

ARBER A. — *Monocotyledons*. University Press. Cambridge, 1925.

La prima foglia, ridotta, opposta a quella ascellante e inserita sulla parte inferiore dei rami caulinari nelle Monocotiledoni, detta *profillo*, non ha, per la Arber A., il valore di due foglie ridotte tra loro fuse, ma ha il valore della base fogliare (guaina o stipole più o meno tra loro fuse) di un'unica foglia. L'unico profillo delle Monocotiledoni, al quale ne corrispondono due nelle Dicotiledoni, ha spesso una forma bicarenata e ciascuna carena è percorsa da una grossa nervatura che ricorda la nervatura mediana di una foglia. Questa particolare morfologia ha fatto supporre ad alcuni Autori che l'unico profillo delle Monocotiledoni corrisponda a due profilli tra loro fusi. La Arber condivide invece l'opinione che la mancanza della nervatura mediana nel profillo così conformato sia solo una apparenza; la nervatura mediana esiste, ma non è facilmente riconoscibile, perchè è da ricercarsi in una foglia deforme, divenuta tale per essere stata troppo compressa, durante il suo sviluppo, dalla foglia ascellante e dall'asse principale. Studiando bene le due nervature delle carene, entrambi apparentemente laterali, si possono notare alcune differenze: così nella *Tradescantia virginica* una è più grossa dell'altra, e nelle Graminacee l'una si sviluppa prima dell'altra e di fronte alla nervatura mediana della foglia successiva. Per questo la Arber, come il Gravis A. e il

Bugnon P., ammette che una nervatura (la più grossa o quella che si sviluppa prima) sia morfologicamente mediana e l'altra sia morfologicamente laterale. Il profillo dell'*Ornithogalum caudatum* è bicarenato, ciascuna carena è percorsa da una nervatura laterale più grossa di quella mediana qui esistente: la forma bicarenata è presentata, sebbene in misura minore, anche dalle giovani foglie successive, perchè, secondo il Lonay H., compresse durante la loro ontogenesi. La Arber A., accenna a questo proposito che anche le altre foglie delle Monocotiledoni, come quelle di *Astelia* e di diverse Crocoidee, possono mostrare nervature laterali più grosse di quella mediana; e pone in rilievo come non solo una foglia, ma anche solo una parte di foglia (guaina stipolare o ligulare), acquisti spesso, per strettezza di spazio durante il suo sviluppo, la forma del profillo bicarenato delle Monocotiledoni. Essa accenna infine per ultimo che il profillo delle Monocotiledoni non sembra equivalere a due foglie, perchè alla sua ascella si trova sempre un'unica gemma e questa è situata di fronte a quella nervatura che per le ragioni suesposte viene da diversi AA. considerata morfologicamente come mediana.

La Arber considera anche il cotiledone unico delle Monocotiledoni come un membro fogliare semplice, il quale per i seguenti motivi non può per essa equivalere a due cotiledoni tra loro fusi insieme (teoria della sincotilia o della Sargant E.). La morfologia esterna del cotiledone delle Monocotiledoni mostra due soli fatti più importanti che possono venire addotti in favore della sincotilia: la guaina cotiledonare molto sviluppata e chiusa, che ricorda il il tubo cotiledonare della plantula di molte Dicotiledoni (costituito dalle parti inferiori tra loro coalescenti dei due cotiledoni); e il cotiledone a succhiatoio, profondamente bifido, immerso nell'albume di due Palme, della *Chamaerops humilis* L. e della *Trachycarpus Fortunei H.* Wendl. La guaina ben sviluppata e chiusa è però frequente anche in nomofilli ritenuti membri fogliari singoli, e il cotiledone bifido delle due Palme citate è un caso troppo particolare per essere di qualche importanza in proposito.

Il cotiledone delle Monocotiledoni manca spesso di una nervatura mediana, e mostra, a destra e a sinistra della regione che dovrebbe essere percorsa da tale nervatura, un fascio cribro-legnoso assai sviluppato. Queste due nervature laterali possono essere molto distanti tra di loro, come per es. in *Anemarrhena asphodeloides* Burge, o invece molto vicine tra di loro come in *Allium neapolitanum* Cyr.; in quest'ultimo caso esse costituiscono il così detto « doppio fascio ». Mentre la Sargant E. (A. della teoria della sincotilia, 1903) considera ciascuna di queste due nervature laterali

come la nervatura mediana di un cotiledone e quindi ammette l'esistenza di due embriofilli tra loro fusi; la Arber, basandosi sopra lavori più recenti, relativi alla plantula dicotile, sostiene che le due nervature laterali sopra ricordate equivalgono nel loro insieme alla nervatura mediana del cotiledone di una Dicotiledone, la quale si mostra spesso e chiaramente della natura di un « doppio fascio », con le due parti, destra e sinistra più o meno vicine o lontane tra loro.

I cotiledoni e i profilli sono foglie molto simili tra loro: gli uni e gli altri sono membri fogliari ridotti, sono i primi ad apparire sopra un asse caulinare, e il numero degli uni è sempre uguale a quello degli altri, 2 nelle Dicotiledoni e 1 nelle Monocotiledoni. Poichè per la Arber il profillo è un membro singolo, ne consegue che, secondo il suo parere, anche il cotiledone deve essere un membro fogliare unico.

La Arber A. pensa che le Monocotiledoni abbiano un cotiledone solo, non perchè due cotiledoni preesistenti si siano fusi insieme, o perchè di questi uno si sia gradualmente ridotto fino a scomparire, o sia diventato prima foglia epicotile; ma semplicemente perchè in queste piante si è formato un solo cotiledone, il quale con la sua base guainante molto estesa, abbracciante tutto il nodo, ha impedito ad ogni altro embriofillo di formarsi.

E nell'*Anemarrhena asphodeloides* Burge tutti i fasci radicali passano dentro l'unico cotiledone, non perchè questo corrisponda a due cotiledoni tra loro fusi, ma perchè è un cotiledone così sviluppato alla base da poter ricevere tutti quei fasci conduttori radicali che in una plantula dicotile sarebbero penetrati alcuni in un cotiledone e gli altri, in ugual numero, nell'altro cotiledone.

La Arber A., segue e sviluppa maggiormente la teoria fillodica (1827) di A. P. De Candolle, secondo la quale le foglie delle Monocotiledoni corrispondono solo alla guaina e al picciolo delle Dicotiledoni. In esse un vero lembo, uguale a quello delle Dicotiledoni, non esisterebbe in nessun caso; il lembo fogliare di una Monocotiledone sarebbe una guaina o un picciolo fogliare più o meno metamorfosato.

BUGNON P. *La théorie de la syncotylie et le cas du Streptopus amplexifolius* DC. *La notion de phyllode appliquée à l'interprétation du cotylédon des Monocotylédones.* C. R. Ac. Sc. Paris, T. 173, pp. 660-663, 1921.

In questa sua nota critica, inspirata dal lavoro di R. Wettstein, anche esso citato nel presente riassunto bibliografico, molto

giustamente, secondo il mio parere, il Bugnon P. fà notare la grande affinità tra la struttura vascolare del cotiledone unico delle Monocotiledoni e la struttura vascolare della parte inferiore (guaina o picciolo) dell'uno o dell'altro cotiledone di una Dicotiledone.

In entrambi una tipica nervatura mediana è assente ed è sostituita da due fasci cribro-legnosi collaterali, variamente orientati e più o meno distanti tra loro. Dato questo, a buon ragione il Bugnon crede più logico vedere nel cotiledone delle Monocotiledoni un membro fogliare singolo di natura fillodica (guaina e picciolo presenti e metamorfosati in lembo, vero lembo assente), che un membro fogliare duplice, formato dalla coalescenza di due cotiledoni, ciascuno dei quali avrebbe per nervatura mediana uno dei due fasci cribro-legnosi asimmetrici (rispetto al piano mediano dell'organo) sopra accennati. Il Wettstein sostiene invece quest'ultima interpretazione, uniformandosi a quanto ha detto la Sargant E. nel 1903 (teoria della sincotilia).

CHAUVEAUD G. — *L'appareil conducteur des plantes vasculaires et les phases principales de son évolution.* Ann. Sc. Nat. Bot. s. 9, T. 13, pp. 113-438, 1911.

L'A. tratta qui specialmente di plantule dicotili, non si occupa della sincotilia e non parla ancora del convergente e della filloriza. Ciò nonostante mi sembra utile dare un cenno su questo lavoro. L'A. descrive i primi stadi ontogenetici dell'apparato cribro-legnoso di plantule appartenenti a quasi 200 specie diverse (delle quali 5 sono Crittogame, 3 Gimnosperme, 12 Monocotiledoni e le altre Dicotiledoni), soprattutto con lo scopo di mostrare che il fusto e la foglia possono presentare, come la radice, la disposizione vascolare alterna, e che da questa si passa col livello alla disposizione collaterale mediante sostituzioni successive di elementi conduttori con altri elementi conduttori disposti in modo diverso rispetto ai precedenti. I fusti a struttura vascolare primaria alterna descritti da Chauveaud sono però solo degli ipocotili, ed è noto che l'ipocotile è un organo particolare interposto tra la radice e il vero fusto (asse epicotile), con caratteri intermedi, radicali-caulinari. Così le gemme di un ipocotile sono endogene, come quelle che si possono sviluppare sopra una radice, anzichè esogene come sono le gemme di un vero fusto.

Le foglie a disposizione vascolare primaria alterna descritte dall'A. sono i cotiledoni, e nella grande maggioranza dei casi questa struttura è stata osservata solo nella base cotiledonare, in continuazione con un ipocotile percorso tutto da fasci conduttori alterni. In

realtà soltanto nelle giovani plantule di *Allium Cepa* e di *Cordyline indivisa* è stata riscontrata una disposiziona vascolare alterna presente in ogni livello del cotiledone, dalla sua base al suo apice.

Chauveaud descrive le Monocotiledoni dopo le Dicotiledoni Composite e quindi non c'è dubbio che esso condivida l'opinione della maggior parte degli AA., nel considerare le Monocotiledoni come le piante più evolute. Ma perchè allora proprio le Monocotiledoni mostrano più in esteso una struttura ancestrale (disposizione vascolare alterna), tanto che in realtà solo in esse l'A. in parola ha trovato un apparato cribro-legnoso così costituito da poter dire « .... la disposition alterne est donc réalisée dans la plante entière » ?

A questa domanda, che a torto Chauveaud non si è rivolta, io credo si possa rispondere ricorrendo alla teoria fillodica (Bugnon, 1921): il cotiledone di una Monocotiledone corrisponde solo alla parte inferiore dell'uno o dell'altro cotiledone di una Dicotiledone; e quindi per quanto il cotiledone di una Monocotiledone sia lungo e per quanto sia percorso in tutta la sua lunghezza da tessuti conduttori in disposizione alterna, il suo reperto non supera quello di una base cotiledonare di Dicotiledone con disposizione vascolare alterna.

La metodica seguita dall'A. in queste ricerche, sezioni a mano e mai col microtomo, fa inoltre pensare che esso non sia riuscito a dimostrare con sicurezza neppure le sostituzioni o apposizioni successive di vasi, e l'assenza, in ogni caso, di torsione o di flessione di questi, nel passaggio, col variare del livello, dalla disposizione vascolare alterna a quella collaterale.

Per lo scopo prefissomi nel presente lavoro devo infine accennare a quanto si può facilmente porre in rilievo dalle descrizioni di plantule di Monocotiledoni lasciateci da Chauveaud.

Le specie sono, come ho già accennato, 12: *Triglochin palustre, Allium Cepa, Tupeinochilus pungens, Arum italicum, Cordyline indivisa, Cordyline calocoma, Dracaena Draco, Yucca aloifolia, Chlorophytum amamense, Tacca integrifolia, Alstroemeria pulchella, Pardanthus sinensis.*

La radice di ogni plantula mostra un apparato cribro-legnoso perfettamente simile nel numero dei fasci a quello della radice di una plantula dicotile di struttura affine. Mentre in una plantula dicotile alcuni fasci legnosi penetrano in un cotiledone e gli altri, in uguale numero, penetrano nell'altro cotiledone; qui, nelle plantule monocotili in parola, alcuni fasci legnosi penetrano nell'unico cotiledone e gli altri terminano nella parte alta della radice o nell'ipocotile. Tutto questo mi sembra rendere poco attendibile l'idea

che la plantula di una Monocotiledone abbia l'ipocotile e la radice corrispondenti solo alla metà longitudinale dell'ipocotile e della radice della plantula di una Dicotiledone (teoria della filloriza, Chauveaud, 1921).

D'altra parte, poichè in nessuna plantula di Monocotiledone descritta da Chauveaud si constata il fatto che tutti i fasci legnosi radicali penetrino nell'unico cotiledone, mentre viceversa solo la metà, o solo un terzo, o persino solo un quarto di quelli penetra in questo membro; necessariamente la nostra mente non può restare molto persuasa dall'idea della sincotilia, in base alla quale ci aspetteremmo di vedere tutti, o almeno la massima parte dei fasci legnosi radicali penetrare nell'unico cotiledone, equivalente questo (teoria della sincotilia; Sargant E., 1903) a due cotiledoni tra loro intimamente uniti.

CHAUVEAUD G. — La *constitution des plantes vasculaires révélée par leur ontogénie.* Ed. Payot, Paris, 1921.

In questa Memoria, nella quale è stato preso in esame solo lo xilema di plantule di Crittogame e di Fanerogame (Dicotiledoni e Monocotiledoni), l'A. introduce il concetto della *filloriza*, che quando è completa, come si è detto, è una piantina costituita da una parte inferiore, detta *riza* e da una parte superiore, detta *filla*. Questa può essere solo una *foglia*, o una *foglia* e un *caule*; e per foglia della filla s'intende la sua parte situata sopra il punto d'inserzione del meristema caulinare, e per caule s'intende la parte della filla situata sotto il punto d'inserzione del meristema caulinare, e che poi in basso si continua con la *riza*.

Secondo questo concetto una pianta è costituita da tante fillorize quante sono le sue foglie e così una piantina giovanissima di Crittogama vascolare o di Monocotiledone, che abbia ancora solo il cotiledone e nessuna foglia epicotile, è una filloriza, mentre una giovanissima plantula di Dicotiledone, che abbia ancora solo i suoi due embriofilli, è costituita da due fillorize complete fuse tra loro con le rize e con i cauli.

Da ciò risulta che esiste per Chauveaud una grande differenza tra una plantula di Monocotiledone e quella, dello stesso stadio ontogenetico, di una Dicotiledone: la radice della prima è una sola riza e quindi corrisponde soltanto alla metà longitudinale della radice della plantula dicotile e lo stesso deve dirsi per l'ipocotile.

La filloriza più tipica, e perciò più importante, è per l'A. (Chauveaud) quella percorsa nel suo interno longitudinalmente da un solo sistema cribro-legnoso elementare, detto *convergente*, costi-

tuito da un fascio legnoso alterno con due fasci floematici che lo fiancheggiano; e Chauveaud si mostra convinto che la plantula dicotile diarca corrisponde a due fillorize tipiche tra loro coalescenti con le rize e con i cauli, sopratutto perchè ha trovato una Ombrellifera indeterminata le cui giovani plantule mostrano due cilindri centrali, in ciascuno dei quali è un convergente.

L'importanza di questo reperto mi sembra però molto diminuita dal fatto che l'A. non ha descritto nessuna plantula di Monocotiledone il cui cilindro centrale sia percorso da un sol convergente, nella radice, e nell'ipocotile se presente; secondo il mio parere solo una plantula di questo tipo di Monocotiledone convaliderebbe l'idea che le plantule delle Monocotiledoni, provviste del solo cotiledone, e ancora di nessun'altra foglia, siano ciascuna una sola filloriza e che quindi corrispondano solo alla metà longitudinale intercotiledonare di una plantula di Dicotiledone.

Si potrebbe però pensare a questo proposito che l'A. in parola abbia voluto descrivere tali plantule, percorse nella loro lunghezza da un sol convergente, con quelle dell'*Alisma Plantago*, che sono diarche con un fascio xilematico unico centrale; e infatti nel descrivere la prima e le successive fillorize esso parla per ciascuna di esse di un unico sistema conduttore elementare e quindi, sembra, di un sol convergente.

Ma qui, come ben sapeva del resto Chauveaud, che accenna alla cosa a proposito delle Crittogame, siamo di fronte a plantule acquatiche che hanno per questo loro ambiente di vita il tessuto xilematico molto ridotto. Quindi essendo due i fasci floematici, senza dubbio sono due anche i fasci legnosi e perciò le plantule di *Alisma Plantago* sono diarche fin dall'inizio del loro sviluppo come quelle di molte Dicotiledoni, specialmente a piccolo seme.

La plantula diarca a un solo cotiledone, di Crittogama o di Monocotiledone, provvista di due convergenti nella radice e nell'ipocotile (riza e caule), deve essere sembrata anche a Chauveaud troppo simile a quella diarca di una Dicotiledone per ammettere, senza traccia di dubbio, che la prima corrisponda alla metà longitudinale della seconda. Su questo deve avere dubitato a lungo anche l'A. della filloriza, che mostra chiaramente di essersi basato un po' eccessivamente sulle strane plantule dell'Ombrellifera indeterminata, che costituiscono un esempio troppo isolato per più di quarant'anni di ricerche.

In definitiva, soltanto perchè non fu trovato nelle Crittogame e nelle Monocotiledoni un caso simile a quello dell'Ombrillifera

indeterminata, esso ha ammesso che le plantule monocotili diarche di queste piante sono fillorize isolate e corrispondono di conseguenza soltanto alla metà longitudinale intercotiledonare delle giovanissime plantule diarche di Dicotiledoni.

Mi sembra poi non privo di interesse notare che, dalle descrizioni e dalle figure della Memoria presa qui in considerazione, risulta che nelle Monocotiledoni solo la prima filloriza mostra un apparato legnoso veramente unico, continuo dalla riza alla filla, mentre le altre successive fillorize lo mostrano discontinuo, perchè il fascio o i fasci xilematici della riza e quello o quelli corrispondenti della filla si uniscono, si raccordano tra loro, alla base della filla, mediante un *plesso xilematico*.

In questa Memoria si asserisce infine in modo categorico che solo le Crittogame vascolari possono presentare all'inizio della loro ontogenesi convergenti asimmetrici, privi cioè di un loro fascio floematico, che si differenzia solo in seguito. Le Fanerogame invece mostrano sempre fin dall'inizio della loro ontogenesi convergenti simmetrici, cioè completi.

Questa asserzione, che mi sembra del tutto infondata, è senza dubbio molto necessaria alla teoria del convergente e a quella della filloriza, perchè bisogna pensare che il vero convergente è quello simmetrico, che perderebbe molta della sua importanza se venisse dimostrato che anche nella Fanerogame, comprese pure le Monocotiledoni, esso non è primitivo, ma secondario nell'ontogenesi. E d'altra parte, per esempio, la diarchia di una Dicotiledone, dovuta alla presenza di due convergenti asimetrici, indurrebbe meno facilmente a pensare che la plantula di una Dicotiledone sia costituita da due fillorize tra loro coalescenti per le rize e per i cauli.

Tutte le volte che una plantula diarca presenta all'inizio della sua ontogenesi i due fasci floematici della diarchia costituiti ciascuno da un solo vaso cribroso, seguendo la teoria del convergente, si possono fare solo due ipotesi: o che i due convergenti si sono sviluppati contemporaneamente in modo asimmetrico, o che un convergente simmetrico si è sviluppato col suo floema prima dell'altro.

Chauveaud si è sicuramente accorto almeno fin dal 1911 che esistono diarchie di questo tipo, ma non ha fatto nessun tentativo per dimostrare quale delle due ipotesi sopra dette corrisponda alla realtà.

CHIARUGI A. — *L'origine dello stolofillo dalla foglia cotiledonare e l'evoluzione del sistema vascolare per accelerazione basifuga in*

Tulipa silvestris L. Nuovo Giorn. Bot. Italiano, n. s., Vol. 31, pp. 177-192, 1924.

L'A. ha studiato le plantule diarche, insieme al loro primo stolofillo, di *Tulipa silvestris* L. Gli sono sembrate perfettamente corrispondenti alla realtà tutte le idee chauveaudiane dell'accelerazione basifuga, della filloriza e del convergente; solo accenna che « l'accelerazione basifuga non segue in *Tulipa* un ritmo uniforme »; mentre infatti alla base dell'ipocotile si è già costituita una struttura periferica (concentrica perixilematica), questa non si è ancora abbozzata nella parte alta dell'ipocotile, e non si formerà mai nel cotiledone.

Questo reperto, molto importante, avrebbe forse dovuto rendere meno favorevole l'A. alle teorie chauveaudiane.

COMPTON R. H. — *An anatomical study of sincotyly and Schizocotyly.* Ann. of Bot., Vol. XXVII, pp. 793-821, 1913.

Il Compton R. H. ammette la teoria della sincotilia, sebbene non per tutte le Monocotiledoni, così ne esclude le Spadiciflore, per le quali considera attendibile la teoria della eterocotilia. Nelle diverse plantule di Dicotiledoni (*Swainsona Cadelli, Helianthus annuus, Prunus domestica*), monocotili per sincotilia, studiate dall'A., tutti i fasci conduttori radicali e ipocotilari passano nell'unico cotiledone. Nel *Ranunculus Ficaria*, al contrario, dei due fasci legnosi della radice diarca uno penetra nel cotiledone e l'altro nella prima foglia epicotile. Per questa ragione il Compton non crede, come invece ha creduto la Sargant E. (1903), che il *Ranuculus Ficaria* sia monocotile per sincotilia. In questa specie il cotiledone sarebbe veramente unico; omologo cioè di uno solo dei due cotiledoni presenti nelle altre Ranunculacee, quasi per intero normalmente dicotili. L'altro cotiledone, o ha perduto la facoltà di svilupparsi, o ha ritardato sempre più il suo sviluppo fino a diventare prima foglia epicotile (teoria della eterocotilia).

Come si vede, il Compton R. H., a differenza di altri (Sargant E., Wettstein R., Ponzo A.) è un sostenitore piuttosto moderato della teoria della sincotilia.

FRANCINI E. — *Lo sviluppo del sistema conduttore nelle plantule di alcune Orchidaceae.* Nuovo Giorn. Bot. Italiano, n. s. Vol. 39, pp. 226-242, 1932.

L'A., che ha studiato la morfologia esterna e quella interna delle plantule di *Bletilla hyacinthina* e delle plantule di alcuni *Paphiopedilum* segue in modo completo la teoria della filloriza di

Chauveaud, alla quale tuttavia non apporta nuovi fatti a sostegno, diversi da quelli già descritti da Chauveaud.

MESSERI A. — *L'evoluzione del sistema conduttore in Asphodelus microcarpus* Viv. e *il significato dei tipi Anemarrhena nel passaggio dalla radice al caule.* Nuovo Giorn. Bot. Italiano, n. s., Vol. 36, pp. 46-56, 1929.

L'A. ridescrive, seguendo i concetti dell'accelerazione basifuga e del convergente di Chauveaud G., i tipi di passaggio dalla disposizione vascolare alterna radicale a quella collaterale cotiledonare, che la Sargant E. ha scoperto nel 1900 e nel 1903 e che ha chiamato tipo *Anemarrhena* o tipo 4°, e tipo *Galtonia* o tipo 5°, simili rispettivamente al tipo 1° e al tipo 3° di Van Thieghem, ma nei quali da una radice tetrarca si formano solo due fasci collaterali cotiledonari, anzichè quattro fasci collaterali cotiledonari, come avviene nel 1° e nel 3° tipo di passaggio di Van Thieghem.

Nel tipo *Anemarrhena* avviene questa riduzione numerica di fasci conduttori perchè solo due dei quattro xilemi alterni della tetrarchia si sdoppiano; poi ciascun mezzo fascio legnoso si fonde coll'uno o coll'altro dei due xilemi restati indivisi, sopra ognuno dei quali intanto i due floemi adiacenti si uniscono in un unico fascio.

Nel tipo *Galtonia* invece la riduzione numerica dei fasci conduttori avviene per lo sdoppiamento di due soli floemi della struttura tetrarca. I mezzi-floemi appartenenti a fasci cribrosi diversi si accollano al libro restato indiviso, mentre sotto questo due fasci xilematici vicini si fondono tra loro; da ciò risulta un fascio collaterale cotiledonare e nello stesso modo si forma l'altro.

Il fenomeno di sdoppiamento del legno, che si riscontra nel tipo *Anemarrhena*, e quello di fusione tra loro dei xilemi, che si riscontra tanto nel tipo *Anemarrhena* che nel tipo *Galtonia*, avvengono secondo la Messeri A. per *evoluzione* e cioè, come ha indicato Chauveaud G., non per flessione verso destra o verso sinistra di vasi xilematici, ma per sostituzione successiva di vasi con altri vasi, differenziatisi più a destra o più a sinistra.

La Messeri A., ammettendo il *convergente* di Chauveaud, pone in rilievo che ciascun fascio collaterale cotiledonare nel tipo *Anemarrhena* è costituito, nella sua parte mediana, da un convergente, e poi da due mezzi convergenti, di cui ciascuno ne forma una parte laterale; mentre nel tipo *Galtonia* ciascun fascio collaterale cotiledonare è costituito da due convergenti. Con questo l'Autrice vuol fare risultare la grande affinità del tipo *Anemarrhena* col 1° tipo

di Van Thieghem e del tipo *Galtonia* col 3° tipo di Van Thieghem. Infatti nel 1° tipo di Van Thieghem ciascuno dei 4 fasci collaterali, è costituito da due mezzi convergenti, e il piano di simmetria di ciascun fascio cotiledonare collaterale del tipo *Anemarrhena* divide questo fascio in due fasci collaterali, costituiti ciascuno da due mezzi convergenti come quelli del 1° tipo di Van Thieghem; nel 3° tipo di Van Thieghem ciascuno dei quattro fasci collaterali, provenienti da una tetrarchia, è costituito da un convergente, e il piano di simmetria di ciascun fascio collaterale cotiledonare nel tipo *Galtonia* divide questo fascio in due fasci collaterali costituiti, come quelli del 3° tipo di Van Thieghem, ciascuno da un convergente. Dato questa affinità l'A. propone di non considerare questi tipi di passaggio della Sargant come un 4° e un 5° tipo, ma solo come un tipo 1° b e un tipo 3° b, chiamando 1° a e 3° a il primo e il terzo tipo di passaggio di Van Thieghem.

Lo stesso lavoro comprende una descrizione originale dell'apparato cribro-legnoso di plantule dell'*Asphodelus microcarpus,* che mancano di ipocotile e sono pentarche. Quattro dei cinque fasci legnosi hanno un comportamento riferibile al tipo *Galtonia* e passano di conseguenza nel cotiledone dopo essersi trasformati in due fasci collaterali, corrispondenti ciascuno a due convergenti. Il quinto fascio diventa un convergente isolato, prima alterno e poi collaterale, nella parte più alta della radice, e quindi come fascio collaterale passa nella prima foglia epicotile.

In questo lavoro la Messeri A., non si occupa della teoria della sincotilia, nè di quella della filloriza, ma sembra accettare questa ultima, perchè chiama « fascio intercaulinare » il fascio collaterale che penetra nella prima foglia epicotile e questa nomenclatura è quella usata da Chauveaud G. nel suo studio (1921) sulla filloriza. Viceversa un sostenitore della teoria della sincotilia, il Ponzo A. per es., troverebbe molto favorevole a questa teoria il comportatamento dell'apparato vascolare dell'*Asphodelus microcarpus* Viv., del quale ben quattro convergenti su cinque passano nell'unico cotiledone, rendendo con ciò attendibile l'ipotesi che l'unico cotiledone di questa Monocotiledone corrisponda a due cotiledoni fusi tra loro con i margini e con le superfici ventrali, come vuole la teoria della sincotilia.

MESSERI E. — *Ricerche sullo sviluppo del sistema vascolare in alcune Monocotiledoni.* Nuovo Giorn. Bot. Italiano, n. s., Vol. 32, pp. 317-372, 1925.

L'Autrice ha studiato l'apparato cribro-legnoso, quasi esclusivamente lo xilema, di giovani plantule di 20 specie di Monocoti-

ledoni, dimostrando soprattutto che il passaggio dalla disposizione vascolare alterna a quella sovrapposta avviene non per torsione, ma solo per sostituzione di vasi. Considera, come Chauveaud, la disposizione alterna del cotiledone uguale a quella della radice. Le plantule sono tetrarche, o triarche, o triarche e poi diarche nella parte superiore della radice, oppure sono poliarche. Solo per l'*Alisma parviflora* l'A. non si pronuncia sul numero dei fasci legnosi e quindi non indica il numero dei convergenti nella radice.

Viene rilevato « che convergenti destinati a dare il fascio intercaulinare non contribuiscono soltanto al raccordo col sistema conduttore della seconda filloriza, ma danno luogo secondariamente ad alcuni piccoli fasci che si distribuiscono alla guaina del cotiledone ». Questi fasci sono stati scoperti dal Chiarugi A. nel 1923 in *Tulipa silvestri* L., e da lui sono stati chiamati *fasci fillari interni*.

L'A. ha notato che circa la metà dei convergenti passa direttamente nel cotiledone mentre l'altra metà fornisce il fascio intercaulinare alla seconda filloriza. Però per la presenza dei fasci fillari interni essa conclude che tutti i convergenti radicali contribuiscono in qualche modo alla innervazione dell'unico cotiledone. In base a queste constatazioni essa non si mostra contraria alla teoria della sincotilia.

È bene accennare che nell'*Iris foetidissima* L. l'A. però ha riscontrato che dei quattro convergenti radicali solo uno passa nel cotiledone, gli altri danno il fascio intercaulinare alla seconda filloriza. L'A. si mostra molto favorevole alla teoria della filloriza, senza accorgersi che teoria della filloriza e teoria della sincotilia si escludono completamente tra loro, perchè se si ammette la sincotilia, ogni filloriza di Monocotiledone diventa 2 fillorize tra loro fuse insieme, e questo è sufficiente a distruggere il concetto di filloriza.

Le specie studiate dall'A. sono: *Agave grandidentata* Jac., *A. Salmiana* Otto, *Pancratium maritimum* L., *Ornithogalum longebracteatum* Jacq., *Urginea Scilla* Steinh., *Drimia altissima* Ker-Gawl., *Asphodelus microcarpus* Viv., *Muscari comosum* Mill., *Convallaria majalis* L., *Iris foetidissima* L., *Iris pallida* Lam., *Romulea Parlatorei* Tod., *Tamus communis* L., *Tradescantia pilosa* Lehm., *Commelina coelestis* Willd., *Phoenix silvestris* Roxb., *Camaerops humilis* L., *Typhonium giganteum* Engl., *Triglochin laxiflora* Guss. *Alisma parviflora* Pursh.

In quest'ultima specie uno dei due tubi cribrosi diametralmente opposti della radice cessa nella parte inferiore dell'ipocotile. Questa è l'unica Monocotiledone acquatica studiata dall'Autrice.

Essa ammette come una verità indiscutibile la teoria dell'accelerazione basifuga di Chauveaud, e senza dubbio il fatto che maggiormente l'ha impressionata e condotta verso questa teoria, è la disposizione vascolare alterna presente in modo continuo e da sola dall'estremità della radice alla estremità del cotiledone, in molte delle plantule da lei studiate. Ma questa A. che, come Chauveaud, ha eseguito uno studio ontogenetico, che vuole essere un po' filogenetico, perchè non si è domandata come mai proprio le Monocotiledoni, che sono le piante più evolute, presentino per tutta la lunghezza delle loro giovani plantule la disposizione vascolare alterna, mentre nelle Dicotiledoni p. es. questa disposizione non va al di là della base o del picciolo del cotiledone, che ha sempre un lembo con soli fasci collaterali?

A questa domanda, che del resto non si è rivolta, come si è visto, neppure Chauveaud, risponderei, ripeto, omologando il cotiledone a disposizione vascolare alterna di una Monocotiledone solo con la parte inferiore di un cotiledone di Dicotiledone. Con questa ipotesi, già emessa da qualche Autore, il cotiledone di una Monocotiledone ha perduto nel corso della filogenesi il suo lembo, che senza alcun dubbio aveva fasci cribro-legnosi collaterali fin dall'inizio della sua ontogenesi, e quindi la disposizione vascolare alterna presente in tutta la lunghezza del giovane cotiledone di molte Monocotiledoni attuali, costituisce un fatto poco importante, perchè secondario nella filogenesi, e costituisce quasi più un'apparenza che una realtà, perchè il cotiledone è molto incompleto, non è veramente rappresentato in tutta la sua lunghezza.

PONZO A. — *La sinfillia nelle Monocotiledoni.* Nuovo Giorn. Bot. Italiano, n. s., Vol. 36, pp. 203-241, 1929.

L'unico cotiledone di molte Monocotiledoni ha una forma allungata cilindroide-conica, è più o meno massiccio, cavo solo verso la base, dove accoglie, in questa sua cavità, il meristema apicale caulinare della plantula; la sua base è guainante in modo completo e quindi occupa tutto il contorno del nodo cotiledonare; in conseguenza un tale cotiledone si può dire *terminale*, quando venga paragonato all'uno o all'altro dei due cotiledoni presenti nella plantula di una Dicotiledone, i quali, occupando ciascuno con la loro base solo una parte del nodo cotiledonare, si possono definire come *laterali*.

L'A. della Memoria sopra citata si basa soprattutto su questi caratteri di morfologia esterna per sostenere con grande convinzione la teoria della sincotilia. Per quanto riguarda la morfologia

interna del cotiledone e delle altre parti della plantula esso si riferisce al fatto che spesso il cotiledone di una Monocotiledone non mostra una nervatura mediana, ma due nervature laterali principali di eguale spessore e più o meno lontane tra loro, che danno l'idea di essere ciascuna la nervatura mediana di un cotiledone nato in coalescenza con un altro cotiledone; e si basa poi in modo particolare sugli studi (1900-1903) della Sargant E. relativi alle plantule di *Anemarrhena asphodeloides*, dai quali risulta che i fasci cribro-legnosi di una plantula monocotile tetrarca possono passare tutti nell'unico cotiledone presente, il quale di conseguenza sembra avere il valore di due cotiledoni, perchè in una plantula dicotile tetrarca una metà dei fasci conduttori passa in un cotiledone e l'altra metà nell'altro cotiledone.

Ma a conferma di questi risultati della Sargant E., il Ponzo cita il lavoro del 1925 della Messeri E., la quale secondo il Ponzo «rilevò che l'unico embriofillo monocotile riceve tutti i convergenti, che nelle Dicotiledoni si dividono nei due embriofilli». Qui mi sembra che l'A. in parola, nel suo appassionato entusiasmo per la teoria della sincotilia, abbia molto esagerato. La Messeri E. infatti non ha mai riscontrato che tutti i convergenti della radice o dell'ipocotile penetrino nell'unico cotiledone; dalle sue ricerce risulta invece che solo circa una metà dei convergenti corrisponde all'embriofillo, mentre l'altra metà corrisponde al primifillo (prima foglia epicotile) e per l'*Iris foetidissima* L. viene detto chiaramente che dei quattro convergenti (struttura tetrarca) presenti nella radice e nel cortissimo ipocotile, solo uno penetra nel cotiledone, mentre gli altri tre convergenti, al livello dell'ipocotile, si flettono e penetrano nella prima foglia epicotile («si torcono per dare il fascio intercaulinare alla seconda filla»).

Secondo il Ponzo l'embriofillo tipico delle Monocotiledoni è quello epigeo, terminale, cilindroide, guainante, monofacciale, solido in alto e cavo in basso, nella sua parte guainante, nella cui cavità esso include la piumetta dell'embrione e della plantula.

Esso si riferisce esclusivamente a questo tipo di cotiledone quando sostiene la teoria della sincotilia. Perciò mi sembra poco opportuno la seguente critica che l'A. muove alla teoria fillodica della Arber E. (1925), secondo la quale teoria un tale cotiledone non corrisponde a due embriofilli opposti, tra loro fusi, ma corrisponde a un fillodio e cioè alla guaina o al picciolo di un solo cotiledone, nel quale non si è formato il lembo. «La Arber, in coerenza alla sua teoria fillodica, riconobbe identica natura nell'embriofillo per la scomparsa della lamina. Anche seguendola nella

qualifica di fillodio (il che, secondo me, non dà il suo vero valore come altrove accennai) possiamo qui veramente sostenere la mancanza della lamina? *Gli embriofilli epigei più o meno cilindroidi, che per tale natura omogenea non presentano lamina differenziata, potrebbero in apparenza darle ragione*; non così gli ipogei che spesso presentano tre regioni distinte: la guaina, il peduncolo picciolare e il succiatoio immerso nel seme, che è più ingrossato, claviforme, a a disco, ecc.; quest'ultimo senza dubbio è omologo alla lamina che perduta la funzione assimilatrice e modificata la sua struttura, ha assunto quella succiatrice».

SARGANT E. — *A theory of the origin of Monocotiledons, founded on the structure of their seedlings.* Ann. of. Bot. V. 17, pp. 1-92, 1903.

La Sargant E., che espone qui la sua teoria della sincotilia, si basa giustamente sullo studio dell'apparato cribro-legnoso delle plantule. Però le ricerche dell'A. sono senza dubbio troppo sommarie per poter convalidare sufficientemente le sue conclusioni. Così la Sargant E. crede che le plantule della gigliacea *Anemarrhena asphodeloides* presentino un apparato cribro-legnoso identico a quello delle plantule della ranunculacea *Eranthis hiemalis,* mentre al contrario le prime sono tetrarche, e le seconde diarche come quelle di tutte le altre Ranunculacee.

WETTSTEIN R. — *Die Keimung von Streptopus amplexifolius* D C. Österr. botan. Zeitschr. pp. 31-37, 1920.

L'A. descrive le plantule di *Streptopus amplexifolius* ponendo specialmente in rilievo la forma laminare, simile a quella di un nomofillo, del cotiledone. Questo è percorso nella sua parte mediana e nella sua lunghezza da due fasci cribro-legnosi collaterali, molto vicini tra loro e l'uno all'altro congiunti dallo xilema col quale si guardano. Nell'ipocotile molto breve esiste, secondo l'A., una tetrarchia, che diventa diarchia nella radice. Lo studio eseguito dal Wettstein su questo apparato cribro-legnoso mi sembra troppo superficiale per potere giustificare le sue conclusioni che tale apparato sia del tutto simile a quello di *Anemarrhena*, *Eranthis* e *Ficaria*, e che il suo comportamento convalidi la teorta della sincotilia.

C'è per lo meno da domandarsi se uno solo o entrambi i fasci legnosi radicali penetrino nel cotiledone e se veramente esista una tetrarchia nell'ipocotile.

Fatti osservati dall' A.

Allium Cepa L.

Tutti coloro che hanno studiato l'apparato cribro-legnoso delle plantule di *Allium Cepa* L., anche se ne hanno osservato i primi stadi ontogenetici (come lo Chauveaud G. e l'Hoffman C. A., Botanical Gazette, Vol. 95, pp. 279-299, 1933), non si sono preoccupati di descriverne la morfologia al primo stadio di sviluppo. Quindi lo stadio ontogenetico veramente iniziale di questo apparato è restato finora sconosciuto, come del resto è avvenuto per molte specie di piante studiate sotto lo stesso punto di vista.

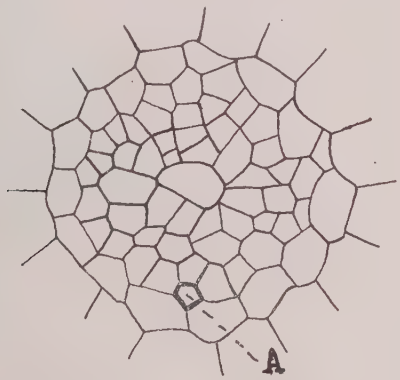


Fig. 1. — *Allium Cepa* L. — Cilindro centrale nella parte inferiore della radice. *A*, vaso cribroso. X 360.

La plantula di *Allium Cepa* L. che è stata oggetto delle mie ricerche mostrava fuori del seme un tratto cilindrico e bianco, lungo solo due millimetri e mezzo, costituito nel terzo inferiore dalla radice principale e nel rimanente dal cotiledone. Da esso ho ottenuto col microtomo 250 sezioni trasversali, tutte di uguale spessore (10 μ), che si sono ben colorite con i due noti colori ematossilina Delafield e safranina.

Un po' al disopra del meristema apicale radicale si mostra ben differenziato un vaso cribroso sottopericiclico, relativamente grande, poligonale nel contorno trasversale e facilmente riconoscibile, perchè assai vuoto di contenuto rispetto alle cellule contigue e alle altre del cilindro centrale, appare nel preparato, da per tutto colorito in azzurro o in violetto più o meno intenso, come una cellula bianca

brillante. Questo vaso cribroso, senza mostrare sostituzioni evidenti con altri vasi cribrosi che lo continuino più in alto, percorre tutta la radice e quella parte del cotiledone fuoruscita dal seme, la sola che ho preso in esame. Nella radice, esso rappresenta un fascio floematico, nella fase iniziale del suo sviluppo, di una struttura diarca; e nel cotiledone esso rappresenta una metà del floema della nervatura mediana all'inizio della sua ontogenesi (vaso cribroso *A* delle Figg. 1, 2, 3 e 4).

Ad un livello situato circa 50 μ sopra quello dove più in basso si mostra il vaso cribroso *A*, ora considerato, compare un altro vaso cribroso, simile in forma e in posizione al primo, cioè anche

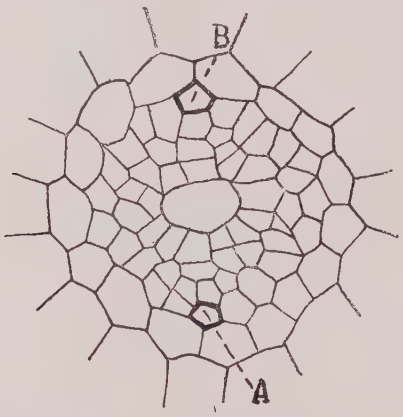


Fig. 2. — *Allium Cepa* L. — Cilindro centrale nella parte inferiore della radice (50 micron più in alto della sezione rapresentata dalla Fig. I). *A* e *B*, vasi cribrosi. X 360.

esso sottopericiclico, e diametralmente opposto a quello (vaso cribroso *B* della Fig. 2).

Dopo qualche centinaio di micron, questo vaso cribroso *B* viene sostituito da un altro che indico con *C*, e questo alla sua volta da un altro che indico con *D*. Tali sostituzioni, che io considero di tipo banale, avvengono lungo il decorso della radice. Nella parte più alta di questo membro avviene invece una sostituzione del vaso cribroso *D* con un nuovo vaso cribroso *E*, che a me sembra d'importanza tutta particolare. A sinistra (per chi guarda la figura: Fig. 3) di *D*, e cioè dal lato del cotiledone, compare accollato a *D* il vaso *E*. Quindici micron più in alto *E* e *D* sono tra loro separati da una cellula di parenchima; poi, pochi micron (circa 10) più in alto ancora, *D* termina, *E* penetra nel cotiledone insieme

al vaso cribroso *A*, e costituisce, senza mostrare nessuna sostituzione, l'altra metà floematica della nervatura mediana di questo organo.

I vasi cribrosi successivi *B*, *C* e *D* rappresentano quindi lo stadio ontogenetico iniziale del secondo fascio floematico della struttura radicale diarca; e il vaso cribroso *E* rappresenta una metà del floema della nervatura mediana cotiledonare all'inizio del suo sviluppo.

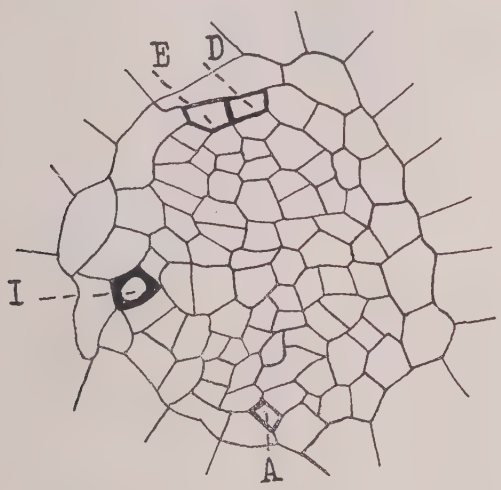


Fig. 3. — *Allium Cepa* L. — Cilindro centrale nella parte più alta della radice. *A, D, E,* vasi cribrosi; *I,* vaso legnoso. X 360.

Completerò questa descrizione della fase ontogenetica iniziale dell'apparato conduttore di *Allium Cepa* L., accennando che lo xilema è differenziato solo secondo un fascetto alterno molto breve, esteso dalla parte più alta della radice alla parte più alta della cavità conica cotiledonare, nella quale è situata la plumula del tutto indiferenziata. Ai suoi due estremi, superiore ed inferiore, questo fascio xilematico alterno è costituito da un sol vaso, ma quello superiore non si identifica affatto con quello inferiore. Nel tratto intermedio i vasi legnosi possono essere anche sei, e seguendoli dal basso verso l'alto ho visto apparire vasi alterni, più esterni di quelli presenti a livelli inferiori.

Il fascio legnoso alterno in parola rappresenta lo stadio ontogenetico iniziale di uno dei due fasci xilematici della struttura radicale diarca, e rappresenta lo stadio ontogenetico iniziale del

legno della nervatura mediana cotiledonare. L'altro fascio legnoso della struttura diarca si differenzia più tardi, per poi penetrare nella prima foglia epicotile, anzichè nel cotiledone.

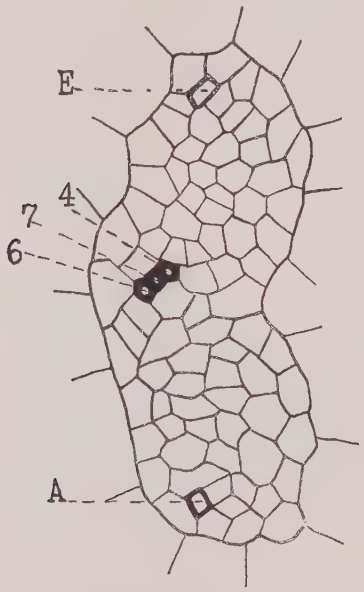


Fig. 4. — *Allium Cepa* L. — Nervatura mediana del cotiledone, nella parte inferiore di questo. *A* ed *E*, vasi cribrosi; *4*, *6* e *7*, vasi legnosi. X 360.

Nella Fig. 4 è mostrata la nervatura mediana cotiledonare (la sola presente) ad un livello alquanto inferiore all'apice della plumula.

Discussione e Conclusione.

Una volta istituito e diventato molto noto il concetto del *convergente* chauveaudiano, quando una radice o un ipocotile diarchi presentano i due fasci cribrosi costituiti ciascuno, all'inizio della loro ontogenesi, ad ogni livello da un sol vaso cribroso, un osservatore deve, credo, domandarsi se questi vasi cribrosi rappresentino il floema di un sol *convergente simmetrico* (fascio legnoso alterno, fiancheggiato a destra e a sinistra da un fascio floematico alterno) o rappresentino invece il floema di due *convergenti asimmetrici* (fascio legnoso alterno fiancheggiato a destra soltanto o a sinistra soltanto da un fascio floematico alterno).

L'A. del concetto di *convergente*, G. Chauveaud, ha ammesso in modo categorico che il convergente asimmetrico è caratteristico delle Crittogame vascolari, mentre quello simmetrico è caratteristico delle Fanerogame, nelle quali esso compare come tale fin dall'inizio della ontogenesi vascolare.

Io viceversa, studiando dettagliatamente l'apparato floematico di un numero notevole di plantule dicotili diarche (Fl. G. Elisei *Sulla morfologia dell'apparato floematico della plantula dicotile diarca.* Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, Ser. IV, Vol. XI, pp. 245-253, 1939), ho potuto convincermi che *il convergente asimmetrico è molto comune nelle Dicotiledoni.*

Dobbiamo quindi adesso domandarci se nella radice della plantula di *Allium Cepa* L. da me descritta esista un convergente simmetrico oppure siano presenti due convergenti asimmetrici.

Il fascio floematico rappresentato dal vaso cribroso *A*, per l'assenza di ogni sostituzione evidente di più vasi cribrosi tra loro, e per la sua più precoce differenziazione dal lato del meristema apicale radicale, mi sembra piuttosto diverso dal fascio cribroso costituito successivamente dai vasi *B*, *C*, *D* ed *E*. La sostituzione di *D* con *E* è poi tale che un sostenitore della teoria del raccordo potrebbe giustamente interpretare *E* come un vaso cribroso cotiledonare e *D* come un vaso cribroso radicale. Ma d'altra parte nel fascio floematico rappresentato da *A* non esiste alcun raccordo, ma una vera identità tra floema radicale e floema cotiledonare. Tale curioso comportamento diverso resta facilmente comprensibile, quando si ammetta la presenza di due convergenti asimmetrici e ci si riferisca alla morfologia dell'apparato floematico, all'inizio della sua ontogenesi, di una plantula dicotile diarca (V. lav. cit.).

In questa, come mostra lo schema della Fig. 5, esistono quattro fasci floematici principali, due a lungo decorso, *A* e *B*, e due a breve decorso, *C* e *D*; tutti costituiti ad ogni livello da un sol tubo cribroso. *A* percorre la radice, l'ipocotile e poi penetra in un cotiledone, nel quale forma una metà del floema della nervatura mediana. *B* percorre la radice, l'ipocotile e poi penetra nell'altro cotiledone, nel quale forma una metà del floema della nervatura mediana. *C* e *D* percorrono solo la parte superiore dell'ipocotile e poi penetrano ciascuno in un cotiledone differente, andando a formare l'altra metà floematica della nervatura mediana. Osservando *A* e *B* non si può fare a meno di notare un perfetto parallelismo tra floema e xilema nella radice e nell'ipocotile diarchi. Come ciascun fascio legnoso corrisponde ad un sol cotiledone, così anche ciascun fascio floematico è in relazione con un sol cotiledone.

Secondo il mio parere, la plantula di *Allium Cepa* L., sopra descritta, mostra nella sua radice due convergenti asimmetrici, due fasci floematici a lungo decorso e un sol fascio cribroso a breve decorso. Il fascio floematico a breve decorso è costituito dal vaso

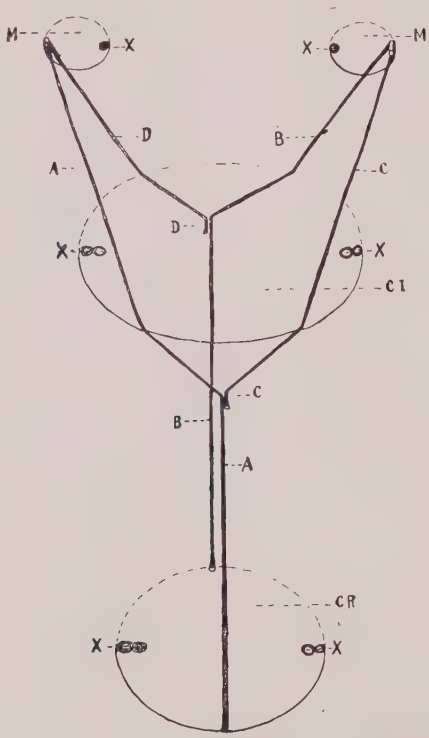


Fig. 5. — Morfologia dell'apparato floematico all'inizio della sua ontogenesi di una plantula dicotile, diarca nella radice e nell'ipocotile. A e B, fasci a lungo decorso; C e D, fasci a breve decorso; X, xilema; CR, cilindro centrale dalla radice; CI, cilindro centrale nella parte più alta dell'ipocotile; M, nervatura mediana del lembo cotiledonare.

E, ed *A* rappresenta un fascio floematico a lungo decorso; l'uno e l'altro corrispondenti all'unico cotiledone presente (come possono essere *A* e *D* della figura 5). L'altro fascio cribroso a lungo decorso si identifica invece con i vasi cribrosi che ho indicato con *B*, *C* e *D*.

Se ci riferiamo ad una plantula di *Allium Cepa* L. più sviluppata, come quella per es. descritta da Chauveaud dalla pag. 175 alla pag 180. della sua Memoria del 1911, constatiamo che dei due

fasci legnosi alterni, che ne percorrono la radice diarca, uno penetra nel cotiledone, mentre l'altro, diametralmente opposto al primo, si arresta nella parte più alta della radice, proprio come succede per il fascio floematico a lungo decorso *B-C-D* da me posto in evidenza.

Stando così le cose, io sono incline ad ammettere che una plantula di *Allium Cepa* L., all'inizio del suo sviluppo, ha una struttura vascolare (la più importante delle strutture) dello stesso tipo di quella mostrata da una plantula dicotile diarca. La mancanza di un fascio floematico a breve decorso (come può essere il fascio *C* della Fig. 5) e l'arresto nella parte alta della radice di un convergente asimmetrico, mentre l'altro, divenuto convergente simmetrico coll'aggiunta di *E*, penetra da solo nel cotiledone; sono fatti che si possono facilmente spiegare pensando al mancato sviluppo di un cotiledone.

La Fig. 4 mostra, in sezione trasversale, la nervatura mediana cotiledonare, la quale conserva questo stesso aspetto (come risulta anche dai lavori di altri AA.) per tutta la lunghezza dell'embriofillo.

I sostenitori della teoria della sincotilia, come la Sargant E, il Wettstein R. e il Ponzo A., vedono, in una tale nervatura mediana le due nervature mediane, tra loro vicine, di due cotiledoni opposti coalescenti. Io non posso assolutamente seguire questa opinione, anche perchè dei due fasci legnosi radicali uno solo penetra nel cotiledone.

La struttura di questa nervatura mediana è invece identica a quella mostrata dalla nervatura mediana dell'uno o dell'altro cotiledone di moltissime plantule dicotili, alla base dell'embriofillo. Non posso quindi fare a meno di seguire la teoria fillodica (V. Bugnon P.) e di interpretare il cotiledone di *Allium Cepa* L., come omologo della base, o del picciolo, cotiledonare soltanto delle Dicotiledoni.

Concludo la discussione dicendo che, secondo il mio parere (basato su ricerche molto più dettagliate di quelle eseguite da tutti gli altri AA.), la plantula di *Allium Cepa* L. è eguale a quella dello stesso tipo diarco, di una Dicotiledone, nella quale non si sia sviluppato uno dei due embriofilli.

Tanto la teoria della sincotilia che quella della filloriza, le quali ripeto, tra loro si escludono, mi sembrano quindi poco attendibili.

RIASSUNTO

L'A. ammette la presenza di due convergenti asimmetrici nella radice di una giovanissima plantula di *Allium Cepa* L. Il comportamento dell'apparato cribro-legnoso di questa plantula sembra all'A. troppo simile a quello dell'apparato conduttore di una plantula dicotile diarca, per poterlo riferire alla teoria della sincotilia o alla teoria della filloriza.

SUMMARIUM

A. affirmat adesse duo convergentia asimmetrica in radice novissimae plantulae *Allii Cepae* L. Species atque notae peculiares apparati cribro-legnosi huius plantulae Auctori videntur similiores apparati ductoris plantulae dycotilis diarcae quam ut referantur ad doctrinam de syncotylia aut de phyllorhiza.

Pavia, R. Istituto Botanico, settembre 1939-XVII.

PARTE SECONDA

RELAZIONI UFFICIALI PER IL SERVIZIO FITOPATOLOGICO

RASSEGNA SULL'ATTIVITÀ DEL R. LABORATORIO CRITTOGAMICO DI PAVIA

(OSSERVATORIO FITOPATOLOGICO per le provincie di Cremona, Parma, Pavia, Piacenza)

durante l'annata 1938

Relazione del Direttore Prof. Gino Pollacci
a S. E. il Ministro della Agricoltura e delle Foreste

Il tempo eccezionalmente arido ha in generale ostacolato non solo lo sviluppo normale della vegetazione delle piante, ma ha sopratutto anche impedito la germinazione ed il rapido diffondersi delle crittogame parassite. Difatti le coltivazioni dei cereali non sono state fortemente danneggiate, come nelle annate passate, dalle *Ruggini* e dal *Mal del Piede*.

Così la vite è rimasta pressochè immune dalla peronospora e dall'oidio per molto tempo.

La peronospora è comparsa molto tardi e l'oidio ha fatto poco danno anch'esso, ostacolato dalla mancanza di umidità necessaria per il suo ciclo vegetativo.

La passata campagna anticrittogamica ha sempre più dimostrato l'utilità dell'impianto di posti di osservazioni fitopatologiche sparsi nelle regioni italiane maggiormente coltivate a vite le quali possano indicare ai viticultori il tempo propizio per l'uso degli anticrittogamici, tempo che varia da anno ad anno, a seconda della temperatura, dell'umidità e della luminosità del cielo. Si potrebbero così risparmiare somme imponenti e lo spreco di faticose giornate di lavoro. Quest'anno, per esempio, in tutte le regioni dell'oltre Po pavese, la peronospora è solo comparsa in agosto, quando i vitilcoltori avevano già fatto 9 e persino 11 superflui trattamenti solfocuprici.

Da incoraggiarsi sono poi i numerosi tentativi che si stanno facendo onde diminuire la quantità dell'elemento Rame da usarsi contro le crittogame applicandolo allo stato colloidale e sopratutto quelli atti a sostituire, con altro elemento efficace, l'elemento Rame mancante o quasi nelle nostre miniere. Tutto fa sperare che l'elemento Mercurio possa sostituire fra breve il Rame nella composizione dei principali nostri fitofarmaci. Sarebbe questa un'importante e reale conquista autarchica.

A questo proposito abbiamo ottenuto autorizzazione dal superiore Ministero di istituire esperienze col nuovo fitofarmaco *solfoproteinato di Mercurio.*

Abbiamo poi anche avuto invito dal Ministero di sperimentare il fitofarmaco distinto col nome di " Asporital „ sopra estese culture di frumento.

I risultati ottenuti sono stati inviati al competente Ufficio Ministeriale.

Il Brusone del riso è tornato a fare qualche comparsa in alcune ristrette plaghe della Lomellina. Il danno è stato trascurabile, ma sarà bene seguire questo tentativo di ricomparsa del malanno, che fece un tempo immensi danni alle colture del riso in Lombardia.

Sarà necessario, secondo noi, rinnovare in gran parte le sementi le quali si dimostrano non più resistenti come una volta agli attacchi del Brusone, sia si presenti come malattia fisiologica, sia come malattia parassitaria.

Le colture di granoturco, tranne il danno della siccità nelle plaghe non irrigabili, hanno avuto pochi danni dalle solite malattie crittogamiche.

Le piante foraggere, ostacolate nel loro sviluppo dalla mancanza di acqua, non hanno presentato serii danni per opera di parassiti, tranne per la Cuscuta che nelle regioni specialmente collinose dell'oltre Po ha prodotto delle perdite di prodotti non indifferenti. Si stanno facendo ricerche sperimentali onde poter trovare un rimedio efficace e più pratico di quelli finora noti contro questo diffuso e tanto dannoso parassita dei nostri foraggi.

Il tempo non freddo e la mancanza di pioggia e di neve che ha favorito la seminagione dei frumenti aveva però anche favorito la comparsa di numerosi insetti parassiti del frumento che incominciavano ad impensierire l'agricoltore. Il freddo rigido primaverile ha in pochi giorni fatto scomparire tale pericolo e ridonato la tranquillità e fiducia ai nostri bravi agrari.

L'attività del personale addetto a questa R. Stazione Sperimentale è stata dedicata inoltre all'esame del numeroso materiale presentato per consigli da Enti e da Privati ed il cui elenco è riportato più avanti; sono stati pure ispezionati in gran quantità i principali vivai di piante sparsi nelle provincie di Pavia, Cremona, Parma e Piacenza, facenti parte della zona affidata all'Osservatorio Fitopatologico annesso a questa R. Stazione.

Il Personale inoltre ha fatto le seguenti ricerche:

Lo scrivente, in collaborazione con il Prof. Ciferri, già Vicedirettore della Stazione e l'Assistente Chimico dell'Istituto Botanico

Prof. Gallotti ha studiato la preparazione dello *Zolfo colloidale* e l'azione di esso quale preventivo contro le alterazioni dei caschi di Banana.

Ha continuato lo studio dei gas inerti da impiegarsi per la conservazione dei prodotti vegetali onde poterli sostituire all'azione del freddo.

In collaborazione col Prof. Maffei, aiuto dell'Istituto Botanico di Pavia, ha pubblicato un grosso trattato, riccamente illustrato di Botanica applicata alle piante medicinali, ossia di Botanica Farmaceutica e con l'Assistente Prof. Gallotti ed il Prof. Ciferri, già Vicedirettore della Stazione e attualmente professore di Botanica alla Facoltà d'Agraria presso l'Università di Firenze, con l'approvazione del Ministero, ha iniziato la sperimentazione pratica del *solfoproteinato di mercurio*, destinato probabilmente a far diminuire l'uso dei composti rameici.

Ha continuato con lo stesso Prof. Gallotti lo studio della *Digitale lanata* quale pianta medicinale italiana atta a fornirci in grande copia glucosidi cardiotonici fino ad oggi importati in quantità dall'Estero (*digilanid*).

Sono pure allo studio altre piante medicinali quali l'*Hamamelis virginiana*, la *Cannabis indica* e l'*Ephedra* in diverse specie, allo scopo di tentare la loro cultura e sfruttamento anche in Italia.

Il Prof. Dott. Elio Baldacci ha assunto la carica di Vicedirettore in seguito a concorso nazionale ed ha svolto ricerche sperimentali intorno alla patologia vegetale, fra cui ricerche sulla ticchiolatura del melo e del pero (*Fusicladium dendriticum* e *F. pirinum*) ed ha in corso ricerche sul mal nero della vite e sul mal del falchetto del gelso; ha compiuto alcuni studi sui miceti, particolarmente sull'*Actinomyces* e sul g. *Malbranchea*. Ha compiuto nuove indagini sui fenomeni d'immunità nelle piante.

Il Prof. Dott. Siro Luigi Maffei, ha eseguito ricerche sopra piante medicinali e sopra malattie di piante utili e coltivate.

Il Prof. Mario Gallotti ha eseguito le seguenti ricerche:

Sulla utilizzazione del legno d'Ailanto come materia prima per la fabbricazione della cellulosa per nitroglicerina.

Estrazione dai falsi frutti della rosa canina di glucosidi ad azione diuretica.

Estrazioni, a carattere industriale, della essenza di *Eucaliptus* da materiale coltivato in Italia.

Studio sulla Canapa indiana coltivata nel nostro Orto Botanico. Estrazione del cannabene e cannabinolo.

Studio sull'*Ustilago Maydis*. Separazione dei principi attivi e loro confronto con quelli della segale cornuta.

La Scilla come ratticida; preparazione di diversi estratti stabilizzati.

Lo zolfo colloidale nell'Agricoltura.

Il mercurio nella pratica agricola.

Studio sulla commestibilità dei funghi in rapporto al loro contenuto in manganese.

Studio sulla *Digitale lanata* del materiale raccolto nel 1° anno di vegetazione.

Sulla preparazione industriale del dimetossiviolantrone.

Il Dott. Flavio Elisei, assistente all'Istituto Botanico addetto al Laboratorio Crittogamico, ha ottenuto la libera docenza in Botanica Generale ed ha eseguito ricerche sopra alcuni miceti che hanno condotto alla determinazione di nuove specie e varietà. Si è occupato di un primo caso di fusariosi del Riso in Italia, e della cariologia del Penicillium.

Esami del materiale inviato alla Stazione durante l'anno 1938

Gli esami di materiale inviato per studio da Enti o da privati sono qui elencati in ordine alfabetico secondo le specie delle piante ammalate; naturalmente ogni esame è stato a suo tempo accompagnato da consigli, nel caso di malattie da indicazioni dei rimedi ritenuti più adatti e spesso sono stati fatti anche sopraluoghi dal personale della Stazione.

Malattie dei cereali

Afidi del grano e dei cereali in numerosi campioni dell'Agro Pavese: la comparsa abbondantissima di questi insetti si deve mettere in relazione all'andamento stagionale con inverno assai mite.

Agriotes del grano su piante di grano inviate in esame dall'Ispettorato Provinciale dell'Agricoltura di Pavia.

Azione del gelo primaverile su piante di grano; in rapporto all'andamento stagionale si potè osservare che durante il mese di aprile, numerose piante di grano soffrirono di aborto della infiorescenza con distruzione dell'asse fiorale. Il danno era assai minore nei campi irrigati ma anche in essi notevole.

Brusone del riso da *Piricularia Oryzae* Cav. in piante di riso inviate dalla Società Bonifiche Ferraresi.

Carbone del granoturco, su piante di Mais inviate da Piacenza.

Cladosporium herbariorum L., su spighe di grano Mentana, in località di Certosa di Pavia.

Clorosi non parassitaria delle piantine di grano inviate in esame dall'Ispettorato dell'Agricoltura di Pavia, e dal Dott. V. Rossi di Cascina Corso.

Erysiphe graminis, in piante di grano inviate in esame dall'Ispettorato dell'Agricoltura di Mortara.

Fusarium moniliforme Sheld., su piante di riso inviate in esame dalla Stazione di risicoltura di Vercelli.

Mal del piede (*Ophiobolus graminis*), in piantine di frumento inviate in esame dall'Ispettorato dell'Agricoltura di Pavia.

Malattie di piante foraggiere e da orto

Cercospora beticola Sacc., su piante di barbabietole da foraggio e da zucchero pervenute dal Vogherese.

Cleonus o punteruolo della bietola in piante inviate dall'Ispettorato dell'Agricoltura di Piacenza.

Colletotrichum Lindemutianum Br. et Cav., in piante di fagiuolo inviateci da Miradolo.

Erwinia carotovora S. A. B., su piante di sedano raccolto nei vivai e piantagioni di Voghera.

Fenditure non parassitarie nei tuberi di patata inviati da Brescia (Scuola Agraria).

Phytophthora infestans De Bary, su piante di patata da Lomello (Pavia).

Pseudopeziza Trifolii (Biv.) Fuck, su piante di trifoglio da Voghera.

Septoria Apii Briosi et Cav., su foglie di sedano in coltivazione del Vogherese.

Uromyces Trifolii Lèv., su piante di trifoglio inviateci da Voghera (Ispettorato dell'Agricoltura).

Uromyces striatus Lèv., su piante di medica di Terni (Ispettorato dell'Agricoltura).

Rhizoctonia violacea D. C., su piante di erba medica inviateci in esame dal Sig. Calatori di Stradella.

Malattie della vite

Alterazioni non parassitarie prodotte da gas tossici, su foglie di vite da La Spezia (Ispettorato dell'Agricoltura).

Arrossamento delle foglie di vite inviate da La Spezia (Ispettorato dell'agricoltura).

Botrytis cinerea Pers., su acini di uva da Broni e Canneto (Sig. Ing. Zucchini).

Erinosi (*Eryophyes Vitis* Land.) su foglie di vite inviateci dall'Ispettorato dell'Agricoltura di Pavia.

Oidium della vite in piante da Stradella, Pavia, Loano, Broni e da diverse altre località.

Malattie delle piante da frutto

Acari su piante da frutto diverse in Broni (Sig. Mantovani).

Bacterium tumefaciens Smith, su rami di pero e di vari fruttiferi da Casalmaggiore.

Cancro del melo (*Nectria*) in piante di melo da Vigevano (Ispettorato dell'Agricoltura) e da Barbianello.

Clasterosporium carpophylum Lèv., su piante di pero inviateci da Piacenza (Sig. Gatti).

Cydia molesta in rametti di Pesco da Certosa di Pavia (Istituto Zootecnico Provinciale).

Eryophyes malinus V., su foglie di melo inviateci dal Sig. Gatti Piacenza).

Fusicladium dendriticum (Wallr.) Fuck., in frutti di melo inviati in esame dal Sig. Zelaschi di Rivanazzano e su foglie e rami di pesco dal Prof. E. Cazzani di Barbianello.

Marciume radicale di piante di melo inviatoci dal Sig. Faravelli di S. Maria della Versa.

Monilia cinerea Pers., su frutti di melo e di pesco in Barbianello (Prof. Cazzani).

Trichotecium roseum su frutta di pero inviata da Como (Ispettorato dell'Agricoltura).

Malattie delle piante arboree industriali

Armillaria mellea, sopra piante di salice da Vigevano (Cascina Sedalta).

Cossus ligniperda (rodilegno) in tronchi inviati dal Podestà di Alagna (Pavia).

Dothichiza populea Sacc., su rami di pioppo inviatici dal Podestà di Alagna (Pavia).

Gallerie d'insetti indeterminati e non presenti al momento dell'esame del campione di pioppo inviatoci dal Podestà di Alagna.

Graphium Ulmi Schwarz, in piante di olmo da Pavia (Ispettorato dell'Agricoltura).

Melampsora Allii-populina Kleb., su foglie di pioppo inviate in esame dal Sig. Gatti (Agronomo) di Piacenza.

Mytilapsis Pomorum, su rami e tronchi di pioppo rimessici dal Signor Ferrini (Alagna).

Pollaccia radiosa Bald. et Cif. (Defogliazione del pioppo) in forma endemica nelle coltivazioni di pioppi lungo il Po. La malattia non ha presentato quest'anno l'imponente aspetto dei due anni precedenti e la defogliazione è assai ridotta.

Septogloeum Mori, sopra foglie di gelso da Borgonovo (Pavia).

Tetranychus sp., in rami e tronchi di pioppo inviatici dal Sig. De Sergis (Pavia).

Malattie delle piante ornamentali

Acari su piante di crisantemo, di rose ecc., in giardini di Pavia.

Alternaria Solani su piante di gerbera.

Aschochyta eteromorfa Curzi, su piante di oleandro da Livorno.

Bacterium tumefaciens Smith, su piante di oleandro da Livorno e di geranio da Pavia.

Capnodium Nerii R., su piante di oleandro nei vivai di Pavia.

Fusarium conglutinans var. *callistephis* Wr., su piante di crisantemo da giardini di Pavia.

Gloeosporium sp., su piante di ciclamino inviateci da vari stabilimenti e serre di Brescia (Sig. Fenaroli) e da Bergamo.

Oidium leucoconium Desm., in foglie di rose da giardini di Varese, Pavia, ecc.

Phyllosticta ilicina Sacc., su foglie di *Quercus Ilex*, inviato in esame dal Giardino del Vittoriale.

Ruggine delle Rose (*Phragmidium subcorticium*), su piante di rose da vivai di Pavia.

Saissetia Oleae (cocciniglia) su piante di oleandro in vivai di Pavia.

Determinazione ed invio di colture di funghi patogeni per l'uomo e per gli animali

Actinomyces albus Rossi Doria, cultura richiesta dall'Istituto Botanico di Genova e dal Dott. Peragallo dell'Istituto Botanico di Pavia.

Actinomyces Bostroemi Bald., colture richieste dal Dott. Besta della R. Università di Roma.

Actinomyces innominatus Bald., colture richieste dal Centralbureau voor Schimmelcultures di Baarn (Olanda).

Actinomyces Israeli Wolf et Israel, coltura richiestaci dal Centralbureau voor Schimmelcultures di Baarn (Olanda).

Actinomyces melanosporeus Krainsky, coltura richiestaci dal Centralbureau voor Schimmelcultures di Baarn (Olanda).

Actinomyces sulphureus Gasp., coltura richiestaci dal Dott. Besta della R. Università di Roma.

Cryptococcus interdigitalis Poll. et Nann., coltura inviata in esame dal Prof. Baccaredda della Clinica Dermatologica di Genova.

Cryptococcus minor Poll. et Nann., colture inviate in esame dal Dr. Rigobello di Pavia.

Cryptococcus Pinoysimilis Gast., coltura inviata per studio dal Prof. S. Sangiorgi.

Geotrichum candidum Link., coltura inviata in esame dallo Staatliches Veterinar-Untersuchungs, Oppeln (Germania).

Hiphoderma laetum Karst., coltura inviata dal Centralbureau voor Schimmelcultures di Baarn (Olanda).

Macrosporium Cavarae Parisi, colture inviate dal Centralbureau voor Schimmelcultures di Baarn (Olanda).

Malbranchea Bolognesi-Chiurcoi Poll. et Nann., colture richieste dal prof. Bolognesi della Clinica Chirurgica di Siena.

Malbranchea Kambayaskii Kamb., coltura richiesta dal Centralbureau voor Schimmelcultures di Baarn (Olanda).

Monilia onychophila Poll. et Nann., colture inviate dal Prof. Mariani, Direttore della Clinica Dermosifilopatica di Genova.

Monosporium venezuelense Cast., colture richieste dal Centralbureau voor Schimmelcultures di Baarn (Olanda).

Nocardia silvodorifera, coltura richiesta dal Centralbureau voor Schimmelcultures di Baarn (Olanda).

Penicillium crustaceum Fries., colture richieste dal Dott. Peragallo dell' Istituto d' Igiene della R. Università di Pavia e dall' Istituto Botanico di Genova, e dall' Ospedale di Novara.

Proactinomyces asteroides (Punt.) Bald., coltura richiesta dal Dott. Besta della R. Università di Roma.

Proactinomyces sp., coltura inviata in esame dal Centralbureau voor Schimmelcultures di Baarn (Olanda).

Proactinomyces sp., coltura inviata in esame dal Dott. Maggi C. della Clinica Medica di Genova.

Scopulariopsis Bertaccinii Red., coltura richiesta dal Centralbureau voor Schimmelcultures di Baarn (Olanda).

Scopulariopsis Bestae Poll., coltura richiesta dal Centralbureau voor Schimmelcultures di Baarn (Olanda).

Spicaria elegans Corda, coltura richiesta dal Centralbureau voor Schimmelcultures di Baarn (Olanda).

Sterigmatocystis nigra v. Thieghem, coltura richiesta dall'Istituto Botanico di Genova.

Sterigmatocystis sp., coltura inviata in esame dal Prof. Franchini, Direttore dell'Istituto di Patologia Coloniale di Modena.

Trichophyton album Sab., coltura richiesta dal Dott. Peragallo dell'Istituto d'Igiene della R. Università di Pavia.

Trichophyton rubrum Cast., coltura richiesta dal Centralbureau voor Schimmelcultures di Baarn (Olanda).

Trichophyton sp., coltura inviata in esame dal Prof. G. Franchini, Direttore dell'Istituto di Patologia Coloniale di Modena

Esami diversi

Analisi botaniche: Germinabilità, purezza ecc., di seme di loglietto (analisi n. 1) per conto dei Sigg. Albutti di Garlasco; di seme di risone Ansen (analisi n. 4), Ardito (analisi n. 4-5), Americano (analisi n. 3), Maratelli (analisi n. 1), Vialone (analisi n. 6), di Ladino (analisi n. 2), di semi di fagiolini (analisi n. 6), di Remo (analisi n. 1), di Damiano Chiesa (analisi n. 6), di grano Mentana (analisi n. 2), di grano P 12 (analisi n. 1), di Villa Glori (analisi n. 2), di grano P 10 (analisi n. 1), di seme di medica (analisi n. 1), di fagiolini (analisi n. 1), di grano quaderna (analisi n. 1) per conto della Ditta Scevola e Melloni di Pavia; di risone Vialone (analisi n. 2), per conto del Signor Razzini di Pavia; di risone (analisi n. 4), per conto del Sig. Vittadini di Valeggio; di loglietto (analisi n. 1), per conto della Ditta F. Torri di Mortara; di trifoglio (analisi n. 1) per conto del Sig. Gobbi di Pavia; di trifoglio ladino (analisi n. 1) per conto del Sig. M. Robecchi di Belgioioso; di risone per conto del Sig. Beretta di S. Genesio; di risone Ardito per conto del Sig. Dott. Comissoni di Pavia; di risone (analisi n. 1) per conto del Sig. Battaini di S. Angelo Lodigiano; di frumento Damiano (analisi n. 1) per conto della Ditta Zorzoli di Mortara; di trifoglio ladino (analisi n. 2); di frumento (analisi n. 3) e di trifoglio (analisi n. 7) per conto della Ditta Mario Davidi di Cremona; di frumento (analisi n. 2) per conto del Sig. Giannone di Zerbolò.

Analisi chimica di melassofonina "Sacced„ (moschicida) per conto del Dott. Balconi di Pavia.

Analisi di umidità e sostanze estranee per conto dell'Ispettorato Provinciale dell'Agricoltura di Pavia in campioni di grano (analisi n. 5) per il Sig. Zorzoli di Mortara (analisi n. 10), in campioni di granoturco (analisi n. 4) per conto dell'Ispettorato dell'Agricoltura di Pavia.

Analisi di acqua di pozzo presso Novi Ligure.

Indicazioni e consigli vari: durata della germinabilità dei semi di pomodoro; indicazioni sulle specie *Leonora cardiaca*; sul *plancton* del Lago di Como al Sig. Olivieri (Como).

Determinazioni di *Pleurotus ostreatus* per l'Ispettorato Provinciale dell'Agricoltura di Pavia; di rametti di *Clerodendron trichomum* per il Sig. Ing. Zucchini di Canneto Pavese; di *Leucophyllum minus* (Scrophulariacea), di *Tubbria circumspecta* Dacc., per agricoltori diversi.

Comitato Amministrativo del R. Laboratorio Crittogamico di Pavia

per il triennio 1937-39

Pollacci Prof. Comm. Dott. Gino	*Presidente*
Ranieri Cav. Dott. Domenico	*R. Intendente di Finanza*
Binelli Comm. Dott. Giorgio	*Rappr. del Ministero*
Dozzio Comm. Dott. Stefano	„ „ „
Sacchi Comm. Ing. Antonio	„ „ „

Personale della Stazione

Direttore — Prof. Dott. Gino Pollacci — IV Grado
Vice Direttore — Prof. Dott. Elio Baldacci — IX „
Sperimentatore — N. N.
Assistente dell'Istituto Botanico addetto al R. Laboratorio Crittogamico — Prof. Elisei Flavio Giuseppe
Segretario Economo — Rag. Vincenzo Rognoni, *Segretario incaricato.*
Bibliotecaria — Rag. Rosetta Catenacci, *Bibliotecaria incaricata presso l'Istituto Botanico di Pavia*
Tecnico — Lubatti Roberto
Bidello — Mascheroni Pietro (mutilato di guerra).

Prestarono l'opera loro:

Maffei Prof. Dott. Siro Luigi — *Aiuto dell'Istituto Botanico.*
Gallotti Prof. Dott. Mario — *Assistente dell'Istituto Botanico.*
Rossi Dott. Ernesto — *Assistente volontario.*

Frequentarono il Laboratorio per ragioni di studio.

Ciferri Prof. Dott. Raffaele, professore di Botanica alla Facoltà Agragria di Firenze.
Traverso Prof. Dott. G. B., professore di Patologia Vegetale alla Facoltà d'Agraria di Milano.
Ferrari Prof. Dott. Angela, professoressa di Scienze Naturali all'Istituto Tecnico di Trento.
Giacomini Dott. Valerio, assistente all'Istituto Botanico della Facoltà d'Agraria di Firenze.
Tacchinardi Dott. Giuseppina, Chimica presso lo Stabilimento Chimico Barzaghi di Milano.
Vaccari Dott. Enrico, assistente all'Istituto Botanico di Genova.
Sig. Cabrini Elisa, laureanda in Scienze naturali.
Sig. Codecà Anna Teresa, laureanda in Scienze naturali.
Sig. Bertoni Armando, laureando in Medicina.
Dott. Invernizzi Angela, laureanda in Chimica pura.
Sig. Manca di Villahermosa, laureando in Chimica pura.
Sig. Pasi Ottorino, laureando in Chimica pura.
Sig. Pagani Luigi, laureando in Farmacia.
Sig. Orsenigo Giulio, laureando in Farmacia.
Sig. Vercesi Angela, laureanda in Farmacia.
Sig. Cantù Teresa, laureanda in Farmacia.
Sig. Beruccini Renata, laureanda in Farmacia.
Sig. Introzzi Teodato, laureando in Farmacia.
Sig. Pioli Olga, laureanda in Farmacia.

Pubblicazioni

Pollacci G. - Direttore — *Trattato di Botanica Farmaceutica* (in collaborazione con S. L. Maffei). Vallardi, Milano 1939.
— *Lo zolfo colloidale come preventivo contro le alterazioni dei caschi di Banana.* Atti Ist. Bot. Pavia, Serie IV, Vol. X, pp. 257-264, 1938 (in collab. con R. Ciferri e M. Gallotti).
— *Sulla composizione ed utilizzazione della vegetazione marina a Thalassia Hemprichii del Littorale della Bassa Somalia.* Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, Serie IV, Vol. X, pp. 265-276, 1938 (in collab. con R. Ciferri e M. Gallotti).
— *Sulla Digitalis lanata Ehr. Pianta medicinale italiana.* Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, Ser. IV, Vol. XI, pp. 3-12, 1938 (in collab. con M. Gallotti e C. Fellagara).
— *Rassegna sull' attività del R. Laboratorio Crittogamico Italiano di Pavia* (Osservatorio Fitopatologico per le Provincie di

Cremona, Parma, Pavia e Piacenza), durante l'anno 1937. Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, Vol. XI, p. 333, 1938.

Baldacci E. - Vicedirettore del Laboratorio Crittogamico — *Contributo alla sistematica degli Attinomiceti*: IV. *Sull'Act. melanosporeus* K. Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, Ser. IV, Vol. X, pp. 321-333, 1938

— *Esperienze e critica dei fenomeni detti di vaccinazione nelle piante superiori.* Nuovo Giornale di Botanica Ital. XLIV, 4, 1937.

— *Primo reperto di Attinomiceti sul corpo delle Termiti.* Bull. Soc. Ital. Biolog. Sperim. XIII, 11, 1938.

— *Revisione di alcune specie del G. Actinomyces.* Mycopathologia 1, 1938, p. 68-76.

— *Biologia di una Rizottonia usata nelle ricerche di vaccinazione* (*Rhizoctonia Solani* var. *ambigua*). Atti Ist. Bot. Univ. Pavia XI, p. 73, 1938 (in collab. con E. Cabrini).

— *Revisione sistematica del genere Malbranchea Sacc.* Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, Ser. IV, Vol. XI, pp. 78-91 (in collab. con R. Ciferri e E. Vaccari).

Maffei S. L. - Aiuto all'Istituto Botanico — *Trattato di Botanica Farmaceutica* (in collab. con G. Pollacci). Vallardi, Milano, 1939.

Gallotti M. - Assistente all'Istituto Botanico — *Lo zolfo colloidale come preventivo contro le alterazioni dei caschi di Banana.* Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, Ser. IV, Vol. X, pp. 257-264, 1938 (in collab. con G. Pollacci e R. Ciferri).

— *Sulla composizione e sull'utilizzazione della vegetazione marina a Thalassia Hemprichii del Littoriale della Bassa Somalia.* Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, Ser. IV, Vol. X, pp. 265-276, 1938 (in collab. con G. Pollacci e R. Ciferri).

— *Contributo allo studio della preparazione industriale del Dimetossiviolantrone.* Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, Ser. IV, Vol. X, pp. 105-111, 1938 (in collab. con G. Acuto e I. Invernizzi)

— *Sulla Digitalis lanata Ehr. pianta medicinale italiana.* Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, Ser. IV, Vol. XI, pp. 3-12, 1938 (in collab. con G. Pollacci e C. Fellagara).

Elisei F. G. - Assistente all'Istituto Botanico — *Sopra una nuova varietà di Tubaria furfuracea* Pers., *T. furfuracea* Pers. var. *crenulata* Elisei (Agaricacea, Achrosporae). Atti Ist. Bot Univ. Pavia, Ser. IV, Vol. X, pp. 277-282, 1938.

— *Revisione del genere Titaeosporina van Luyk.* Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, Ser. IV, Vol. X, pp. 283-288, 1938.

— *Nuovi deuteromiceti foglicoli maculicoli* (*Microdiplodia Cinnamomi* El., *Gloeosporium Smilacis* El., *Gl. Cephalis* El., *Gl. Malpighiae* El., *Oospora Bresciae* El.). Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, Ser. IV, Vol. X, pp. 289-304, 1938.

— *Osservazioni sul nucleo del Penicillium*. Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, Ser. IV, Vol. XI, pp. 13-21, 1938.

— *Primo reperto in Italia del Fusarium moniliforme Sheld., parassita del riso* (*Oryza sativa* L.). Atti Ist. Bot. Univ, Pavia, Ser. IV, Vol. XI, pp. 3-12, 1938.

Vaccari E. — *Revisione sistematica del genere Malbranchea* Sacc. Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, Ser. IV, Vol. XI, pp. 74-91, 1938 (in collab. con R. Ciferri e E. Baldacci).

Cabrini E. — *Biologia di una Rizoctonia usata nelle ricerche di vaccinazione* (*Rhizoctonia Solani* var. *ambigua*). Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, Ser. IV, Vol. XI, pp. 73, 1938 (in collab. con E. Baldacci).

Giacomini V. — *Revisione delle briofite dell' Italia Meridionale appartenenti all' Erbario di A. G. Gasparrini*. Par. I, Muschi Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, Ser. IV, Vol. X, pp. 205-320 1938.

Pavia, R. Laboratorio Crittogamico, gennaio 1939-XVII

INDICE DEL PRESENTE VOLUME

Serie IV[a] — Vol. XI°

INTRODUZIONE

Cenno biografico di Vallisneri Antonio di Lorenzo (Gino Pollacci) . . . . . *pag.* III
Prefazione (Gino Pollacci) . . . . . » V

PARTE I[a]

Note e memorie originali

Sulla *Digitalis lanata* Ehrh. pianta medicinale italiana (G. Pollacci, M. Gallotti e C. Fellagara) . . . . . » 3
Osservazioni sul nucleo dei *Penicillium* (F. G. Elisei) . » 13
Biologia di una Rizottonia usata nelle ricerche di vaccinazione (*Rhizoctonia Solani* var. *ambigua* nobis (E. Baldacci ed E. Cabrini) . . . . . » 23
Revisione sistematica del genere *Malbranchea* Sacc. (E. Baldacci, R. Ciferri ed E. Vaccari) . . . . . » 75
Contributo allo studio della preparazione industriale del dimetossiviolantrone (M. Gallotti, G. Acuto ed I. Invernizzi) » 105
Attività della *Digitalis lanata* Ehrh. coltivata in Pavia (P. Marangoni) . . . . . » 113
Primo reperto in Italia del *Fusarium moniliforme* Sheld. parassita del riso (*Oryza sativa* L.) (F. G. Elisei) . » 125
Lo zolfo-proteinato di mercurio come fitofarmaco autarchico (G. Pollacci, R. Ciferri e M. Gallotti) . . . . . » 135
Ricerche sul potere patogeno dei miceti. I. Esperienze con la *Beauveria Bassiana* (Bals. Criv.) Vuill. sul *Bombyx Mori* L. (E. Baldacci) . . . . . » 153
Contributo alla sistematica degli Attinomiceti. V-VIII. *Actinomyces albus*, *A. chromogenus*, *A. odorifer*, *A. thermophylus*, *A. viridis*, *A. viridochromogenus*, *A. hominis*, *A. innominatus* (E. Baldacci) . . . . . » 191
La teoria del raccordo e un primo stadio ontogenetico dell'apparato cribro-legnoso di *Nicotiana rustica* L. (F. G. Elisei) . . . . . » 233

Sulla morfologia dell' apparato floematico della plantula dicotile diarca (F. G. Elisei) . . . . . *pag.* 245
Ricerche sulla germinazione delle Ascospore e sulla origine dei periteci della *Sporormia Pollaccii* El., n. sp. (F. G. Elisei) . . . . . » 255
Spettro d' assorbimento della clorofilla trattata con solfato di rame (L. Giulotto) . . . . . » 269
Nuovi casi di tracheoverticilliosi su *Digitalis lanata* e *Santolina chamaecyparissus* (F. Lona) . . . . . » 273
Isolamento di Schizomiceti cellulositici (*Cytophaga*), Attinomiceti (*Actinomyces*), Eumiceti dall' intestino delle termiti, e ricerche sulla attività cellulositica degli Attinomiceti (O. Verona e E. Baldacci) . . . . . » 289
Lo sfruttamento delle acque termali a vantaggio della orticoltura italiana (G. Pollacci) . . . . . » 303
Sincotilia e filloriza (F. G. Elisei) . . . . . » 311

PARTE II[a]

Relazioni ufficiali per il servizio fitopatologico

Rassegna sull' attività del R. Laboratorio Crittogamico di Pavia (Osservatorio Fitopatologico per le provincie di Cremona, Parma, Pavia, Piacenza) durante l' annata 1938 (G. Pollacci) . . . . . » 337

Pubblicazioni dell'Istituto Botanico e Laboratorio Crittogamico

della R. Università di Pavia

SERIE PRIMA

Direttore: Prof. SANTO GAROVAGLIO

ARCHIVIO DEL LABORATORIO CRITTOGAMICO

N. 5 volumi

SERIE SECONDA

Direttore: Prof. GIOVANNI BRIOSI

ATTI DELL'ISTITUTO BOTANICO E LABORATORIO CRITTOGAMICO DI PAVIA

N. 18 volumi di circa 6200 pag. con 336 tavole

SERIE TERZA

Direttore: Prof. LUIGI MONTEMARTINI

N. 3 volumi di circa 700 pag. con 50 tavole

SERIE QUARTA

Direttore: Prof. GINO POLLACCI

N. 11 volumi di circa 3900 pag. con 1000 fig.
(il XII° è in corso di stampa)

Per acquisti e cambi rivolgersi alla **Direzione dell'Istituto Botanico della R. Università di Pavia** *(Italia) Cas. Post. 165.*

BRIOSI e CAVARA

I FUNGHI PARASSITI DELLE PIANTE COLTIVATE OD UTILI

continuati da **F. CAVARA** e **G. POLLACCI**

Fascicolo 19.°

(Il fascicolo 20° è in corso di stampa)

Per acquisto dei fascicoli ancora disponibili rivolgersi alla Direzione dell'Istituto Botanico di Pavia

---

G. POLLACCI e A. NANNIZZI

I MICETI PATOGENI DELL'UOMO E DEGLI ANIMALI

descritti, delineati e preparati per l'osservazione al microscopio con notizie sopra i rimedi per combatterli

L'opera completa consta di dieci fascicoli

Editore - Licinio Cappelli - Bologna

TRATTATO DI MICOPATOLOGIA UMANA

diretto da **GINO POLLACCI**

Volume I.°

LE MICOSI POLMONARI

per A. PERIN

Volume II.°

LE MICOSI CHIRURGICHE

per G. BOLOGNESI e G. A. CHIURCO

Volume III.°

LE MICOSI DELL'OCCHIO

per V. CAVARA

Volume IV.°

REPERTORIO SISTEMATICO DEI MICETI PATOGENI DELL'UOMO E DEGLI ANIMALI

per A. NANNIZZI

Volume V°

LE MICOSI TROPICALI

per P. REDAELLI e R. CIFERRI

In corso di stampa

Editore - Rosemberg e Sellier - Torino